

Aus der Universitätsfrauenklinik
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

G-Protein-gekoppelter Östrogenrezeptor-1 (GPER-1) Expression im
Hormonrezeptor-positiven Mammakarzinom und ihr Einfluss auf die endokrine
Therapie

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.
(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von Maria Luise Claus- Engelmann

aus Braunschweig

Magdeburg 2022

Dokumentationsblatt

Bibliographische Beschreibung

Claus- Engelmann, Maria Luise

G-Protein-gekoppelter Östrogenrezeptor-1 (GPER-1) Expression im Hormonrezeptor-positiven Mammakarzinom und ihr Einfluss auf die endokrine Therapie

Universitätsfrauenklinik der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg. 2022, 61 Blatt, 16 Abbildungen, 3 Tabellen

Die vorliegende Arbeit untersucht zum einen, welcher Zusammenhang zwischen den klinisch- pathologischen Tumorcharakteristika und der GPER-1 Expression im invasiven, nicht metastasierten Mammakarzinom besteht, zum anderen ob die GPER-1 Expression Auswirkungen auf die endokrine Therapie hat. Es wurden 442 Patienten mit invasivem, nicht metastasiertem Mammakarzinom in die Studie aufgenommen. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen positiver GPER-1 Expression zu einem positiven Östrogen- sowie Progesteronrezeptorstatus, zu einem niedrigen histologischen Grading und niedrigen Ki67- Level sowie weniger notwendigen Polychemotherapien. Als weiterer Untersuchungsschwerpunkt zeigte sich, dass das krankheitsfreie Überleben (DFS) bei GPER-1 positiven Patienten unter Tamoxifen oder Aromataseinhibitoren keinen signifikanten Unterschied aufwies. Nach dem Matching zeigte sich, dass das DFS für GPER-1 positive Patienten nach Erhalt von Tamoxifen niedriger war als bei Patienten mit Aromataseinhibitoren. Schlussfolgernd konnte nachgewiesen werden, dass die GPER-1 Expression beim Mammakarzinom zum einen mit einer günstigen Tumorbiologie, aber zum anderen mit einer niedrigeren DFS nach Tamoxifentherapie einhergeht. Damit konnte unsere Untersuchung die Hypothese bestätigen, dass die GPER-1 Expression für eine mögliche Resistenz einer Tamoxifentherapie verantwortlich sein könnte. Diese Arbeit kann als Ausgangspunkt für weitere Studien dienen, um mögliche Resistenzmechanismen endokriner Therapien und GPER-1 Expression im Mammakarzinom zu untersuchen.

Schlüsselwörter: GPER-1, Mammakarzinom, Östrogenrezeptor, Tamoxifen, Tamoxifen Resistenz

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	
Tabellenverzeichnis	
Abkürzungsverzeichnis	
1. Einleitung	1
1.1 <i>Das Mammakarzinom</i>	1
1.1.1 Epidemiologie	1
1.1.2 Allgemeines zum Mammakarzinom	1
1.1.3 Risikofaktoren	1
1.1.4 Prognostische und prädiktive Faktoren	2
1.2 <i>Theoretische Grundlagen der Hormonrezeptoren sowie der Expression und die Bedeutung des G-Protein-gekoppelten Östrogenrezeptors 1 (GPER-1)</i>	4
1.2.1 Östrogen- und Progesteronrezeptor	4
1.2.2 G-Protein-gekoppelter Östrogenrezeptor-1	6
1.3 <i>Therapie des Mammakarzinoms</i>	8
1.3.1 Allgemeines zu Therapieoptionen.....	8
1.3.2 Endokrine Therapie.....	8
1.3.3 Tamoxifen-Resistenz und die Bedeutung des GPER-1	9
1.4 <i>Fragestellung der Arbeit</i>	10
2. Material und Methoden	12
2.1 <i>Patientenkollektiv</i>	12
2.2 <i>Histologische Aufarbeitungen der Gewebeproben</i>	12
2.3 <i>GPER-1 Expression und sein pathologischer Nachweis</i>	14
2.4 <i>Statistische Auswertung</i>	16
3. Ergebnisse	17
3.1 <i>..... Korrelation zwischen der GPER-1 Expression und den klinischen und</i> <i>..... pathologischen Charakteristika in unserem Patientenkollektiv</i>	17
3.1.1 GPER-1 Expression	17
3.1.2 Histologisches Grading und GPER-1 Expression	17
3.1.3 Östrogenrezeptorstatus und GPER-1 Expression.....	18
3.1.4 Progesteronrezeptorstatus und GPER-1 Expression	19
3.1.5 HER2 Rezeptorstatus und GPER-1 Expression	20
3.1.6 Tumorgröße und Lymphknotenstatus verglichen zur GPER- 1 Expression	21

3.1.7	GPER-1 Expression und der Ki-67 Nachweis	23
3.1.8	Systemische Therapie und GPER-1 Status	24
3.1.9	GPER-1 Expression und sein Zusammenhang zur Operation und Bestrahlung.....	25
3.1.10	Zusammenfassung der Ergebnisse	26
3.2	<i>Einfluss der GPER-1 Expression auf die endokrine Therapie.....</i>	<i>28</i>
3.2.1	Analyse unseres Patientengutes und ihr Outcome	28
3.2.2	Einteilung der Patientinnen entsprechend dem Nachweis von GPER-1 im Tumor und der endokrinen Therapieform.....	29
3.2.3	GPER-1 Expression und ihr Einfluss auf die Therapie unter Tamoxifen und Aromataseinhibitoren	31
3.2.4	GPER-1 Expression und ihr Einfluss auf die endokrine Therapie nach dem Matching	32
4.	Diskussion.....	34
4.1	<i>GEPR-1 Expression und sein Einfluss auf verschiedene Tumorcharakteristika</i>	<i>34</i>
4.2	<i>GPER-1- Expression im Mammakarzinom und seine Bedeutung für die Tamoxifentherapie</i>	<i>39</i>
5.	Zusammenfassung	45
6.	Literaturverzeichnis	48
7.	Danksagung	57
8.	Ehrenerklärung.....	58
9.	Lebenslauf	59

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1 GPER-1 EXPRESSION IN BRUSTKREBSGEWEBE. A) GPER-1 NEGATIVE EXPRESSION B) GPER-1 SCHWACHE EXPRESSION C) GPER-1 MODERATE EXPRESSION D) GPER-1 STARKE EXPRESSION...	15
ABBILDUNG 2: GPER-1 EXPRESSION UND HISTOLOGISCHES GRADING.....	18
ABBILDUNG 3: GPER-1 EXPRESSION UND ÖSTROGENREZEPTORSTATUS	19
ABBILDUNG 4: GPER-1 EXPRESSION UND PROGESTERONREZEPTORSTATUS	20
ABBILDUNG 5: GPER-1 EXPRESSION UND HER2- STATUS	21
ABBILDUNG 6: GPER-1 EXPRESSION UND TUMORGRÖÙE	22
ABBILDUNG 7: GPER-1 EXPRESSION UND LYMPHKNOTENBEFALL	23
ABBILDUNG 8: GPER-1 EXPRESSION UND KI-67	23
ABBILDUNG 9: GPER-1 EXPRESSION UND SYSTEMISCHE THERAPIE	24
ABBILDUNG 10: GPER-1 EXPRESSION UND OPERATION.....	25
ABBILDUNG 11: GPER-1 EXPRESSION UND BESTRAHLUNG	26
ABBILDUNG 12: REZIDIVERKRANKUNGEN UND TODESFÄLLE UNSERES PATIENTENGUTES WÄHREND DER NACHSORGE.....	29
ABBILDUNG 13: EINTEILUNG UNSERES PATIENTENGUTES.....	30
ABBILDUNG 14: GPER-1 POSITIVE EXPRESSION UND ENDOKRINE THERAPIE	31
ABBILDUNG 15: GPER-1 POSITIVE EXPRESSION UND ENDOKRINE THERAPIE NACH MATCHING ANALYSE.....	32
ABBILDUNG 16: KAPLAN- MEIER- KURVE ÜBER DEN EINFLUSS DER ENDOKRINEN THERAPIE BEI GPER-1 POSITIVEN PATIENTINNEN. A: KRANKHEITSFREIES ÜBERLEBEN (DFS) IM GESAMTKOLLEKTIV. B: DFS NACH MATCHING ANALYSE	33

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: MOLEKULARE SUBTYPEN DES MAMMAKARZINOMS NACH ST. GALLEN KONFERENZ 2011 (10).....	4
TABELLE 2: IHS SCORE VON GPER-1	16
TABELLE 3: KLINISCHE UND PATHOLOGISCHE CHARAKTERISTIKA BEI GPER-1 POSITIVER BZW. NEGATIVER EXPRESSION.....	27

Abkürzungsverzeichnis:

AF1	Aktivierungsfunktion 1
AF2	Transaktivierungsregion 2
BEO	brusterhaltende Operation
BRCA 1/2	engl. breast cancer 1/2 (Brustkrebsgen 1/2)
cAMP	zyklische Adenosinmonophosphat
DBD	DNA-Bindungsdomäne
DFS	engl. disease-free survival (krankheitsfreies Überleben)
E2	Östradiol
EGFR	engl. epidermal growth factor receptor (epidermaler Wachstumsrezeptorfaktor)
ER	Östrogenrezeptor
ERE	engl. estrogen-response element
ERK 1/2	engl. extracellular signal regulated kinase 1/2
GPCR/ GPR30	engl. G-protein coupled receptor (G-Protein gekoppelter Rezeptor)
GPER-1	G-Protein-gekoppelter Östrogenrezeptor 1
HER2 Rezeptor	humaner epidermaler Wachstumsfaktorrezeptor 2
HR	Hormonrezeptor
HSP	Heatshock- Protein
NST	Nicht- spezifischer Typ (Mammakarzinom)
OS	engl. overall survival (Gesamtüberleben)
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
PR	Progesteronrezeptor
SERM	Selektiver Östrogenrezeptor-Modulator
TAM	Tamoxifen
TNBC	engl. triple-negative breast cancer (triple negativer Brustkrebs)
TP53	Tumorsuppressorgen p53

1. Einleitung

1.1 *Das Mammakarzinom*

1.1.1 *Epidemiologie*

Das Mammakarzinom zählt mit 30,5% zu der häufigsten bösartigen Krebserkrankung der Frau, was wiederum bedeutet, dass jede achte Frau an Brustkrebs erkrankt. In Deutschland sind circa 70.000 Neuerkrankungen pro Jahr zu verzeichnen. Die Inzidenz ist weltweit steigend. Am häufigsten betrifft es Frauen zwischen der 5. und 7. Lebensdekade. Männer sind sehr selten vom Brustkrebs betroffen, mit einer standardisierten Erkrankungsrate von 1,1%. Ein geographischer Inzidenzunterschied ist ebenso zu beobachten. Eine hohe Inzidenzrate wird in Ländern mit einem erhöhten Einkommen wie Nordamerika, Nord- und Westeuropa registriert (1). Die Mortalität in Deutschland sinkt und beträgt circa 20%. Durch den Anstieg der Inzidenz mit einer Abnahme der Mortalität steigt die Prävalenz an erkrankten Frauen in Deutschland (2).

1.1.2 *Allgemeines zum Mammakarzinom*

Das Mammakarzinom ist ein bösartiger, vom Epithel der Drüsenlobuli oder der Milchgänge ausgehender, Tumor. In 80% der Fälle wird das Mammakarzinom als Nicht-spezifischer Typ (NST) diagnostiziert. In den restlichen Fällen sind invasive lobuläre, muzinöse, medulläre, papilläre, tubuläre und gemischte Tumortypen zu unterscheiden. Auch sind nicht-invasive Mammakarzinome bekannt, dazu gehören das duktales Carcinoma in situ, das lobuläre Carcinoma in situ bzw. die lobuläre intraepitheliale Neoplasie. Zu den Sonderformen gehört der Morbus Paget der Mamille, ein nicht-invasiver Tumor der Mamillenhaut, welcher meistens mit dem intraduktalen Mammakarzinom assoziiert ist. Das inflammatorische Mammakarzinom bezeichnet die diffuse Infiltration der Lymphbahnen der Brust und des umgebenen Lymphsystems bis in die Haut und ist eine wichtige Differentialdiagnose zur non-puerperalen Mastitis. Diese Form geht mit einer ungünstigen Prognose einher (3).

1.1.3 *Risikofaktoren*

Verschiedene Risikofaktoren sind für die Entstehung des Mammakarzinoms bekannt. Einerseits gehört hormonell gesehen zunächst eine frühe Menarche zusammen mit einer späten Menopause dazu. Weiterhin zu erwähnen sind die Nulliparität und die zu kurze oder fehlende Stillzeit (4). Das steigende Alter, die positive

Familienanamnese, insbesondere für Verwandte 1. Grades (5), und die Hormonersatztherapie in der Postmenopause (6,7) können einen Einfluss auf die Entstehung des Mammakarzinoms haben. Des Weiteren spielt der Lebensstil eine wichtige Rolle: Adipositas, unzureichende Bewegung, Diabetes Mellitus und Rauchen sind als Risikofaktoren identifiziert worden (2,8,9,10).

Zu den hereditären Risikofaktoren gehören die Mutationen der BRCA 1 und 2 Gene, welche autosomal-dominant vererbt werden. Hier sind besonders junge Patientinnen betroffen und die Tumore sind durch eine besonders aggressive Tumorbilogie charakterisiert. Ein weiterer Risikofaktor ist die Genmutation des p53 Tumorsuppressors, die autosomal-dominant vererbt, und mit dem Li-Fraumeni-Syndrom verbunden ist (10,11).

1.1.4 Prognostische und prädiktive Faktoren

Prognosefaktoren geben Informationen über den individuellen Krankheitsverlauf und prädiktive Faktoren sollen eine Vorhersage des Ansprechens einer bestimmten Therapie geben.

1. Alter: Jüngere Patienten, < 35-40 Jahre, haben eine ungünstigere Prognose. Man hat beobachtet, dass bei diesen Patientinnen Lokalrezidive sowie Fernmetastasen früher auftreten. Auch kommt es häufiger zu Zweitkarzinomen. Meistens tritt bei jüngeren Patientinnen der hereditäre Typ des Mamma-Karzinoms auf, welcher BRCA positiv ist. Laut Empfehlungen von Sankt Gallen 2007, sollten Patienten, die jünger als 35 Jahre alt sind, als Hochrisikopatienten eingestuft werden (12,13).
2. TNM- Klassifikation: Sie gibt Auskunft über die Größe und Ausbreitung des Primärtumors. Dabei steht T für die Tumorgöße, N für den Lymphknotenbefall und M für die Fernmetastasierung. Diese Einteilung kann Auskunft über die Prognose einer Krebserkrankung geben.
3. Grading: Aktuell erfolgt die Einteilung nach dem System von Elston und Ellis. Es werden das Ausmaß der Kernpolymorphien, der Anteil der tubulären Strukturen sowie die Anzahl der Mitosen untersucht und in drei Grade eingeteilt (14).
G1: gut differenziert, geringer Malignitätsgrad
G2: mäßig differenziert und mäßiger Malignitätsgrad

G3: schlecht differenziert, hoher Malignitätsgrad

4. Hormonrezeptoren: Östrogen- und Progesteronrezeptoren Bei Vorhandensein von Östrogen- bzw. Progesteronrezeptoren wird von einer günstigeren Prognose ausgegangen. Diese Patientinnen profitieren von einer adjuvanten endokrinen Therapie. Die Effizienz der Therapie korreliert mit der Höhe der Rezeptoranzahl. Je stärker die Expression desto höher die Wahrscheinlichkeit eines Ansprechens auf die endokrine Therapie.
Prädiktiv sprechen Tumore mit Östrogen- und Progesteronrezeptoren besser auf eine endokrine Therapie an als Tumore mit nur einem positiven Rezeptor (12).
5. HER2 Rezeptor: Die Überexpression dieses Faktors korreliert prognostisch mit einem rasch progredienten und metastasierenden Verlauf des Mammakarzinoms (15). Aber prädiktiv kann der Nachweis von HER2 für neue Therapieoptionen mit entsprechenden Antikörpern (Trastuzumab und Pertuzumab) genutzt werden und bringt den Patientinnen neue Therapieoptionen. Laut Studien kann damit das Rezidivrisiko um 50% gesenkt werden. Weiterhin zeigen retrospektive Studien eine Korrelation zwischen einer HER2- Überexpression und einer Tamoxifenresistenz (12).
6. Ki-67: Ki-67 ist ein Protein, welches sich auf der Oberfläche von Zellen während der Wachstumsphase nachweisen lässt. Es wird als ein Proliferationsmarker genutzt, um wachstumsaktive Zellen darzustellen. Eine Überexpression dieses Markers geht mit einer schlechteren Prognose bezüglich Gesamtüberleben sowie erhöhtem Rückfallrisiko einher (16), zeigt auf der anderen Seite jedoch ein gutes Ansprechen auf eine Chemotherapie (17).
7. Histologische Subtypen: Die Unterteilung in verschiedene Subtypen geht mit unterschiedlichen Prognosen einher und sollen eine Vorhersage bezüglich der Therapieoption und des Therapieansprechens des Tumors aufzeigen (18).
Luminal A: ist für 30-40% der invasiven Mammakarzinom Erkrankungen verantwortlich (19). Hormonrezeptoren (HR) positiv, HER2 negativ, Ki-67 Proliferation liegt unter 14 % und wird damit als niedrig bezeichnet (20).
Luminal B: umfasst 20% - 30% der invasiven Brusttumore. HR positiv, HER2 negativ oder positiv, Ki-67 und das histologische Grading ist höher als bei Luminal A (19).

HER2 positiv/ nicht- luminal: Diese Subtypgruppe macht 15% aller invasiven Brustkrebskrankungen aus. Die HR sind negativ, HER2 positiv, die Ki-67 Expression zeigt sich meistens erhöht. Oft ist in dieser Gruppe eine Mutation des Tumorsuppressorgens p53 (TP53) nachzuweisen. Auch zeigt sich bei dem HER2 positiven Subtyp, dass er mit einem höheren Grading sowie mit Lymphknotenmetastasen einhergeht.

Basal-like/ triple-negativ: Basal-like umfasst 15% der invasiven Mammakarzinome. Diese Tumore sind sowohl HR als auch HER2 negativ Sie sind häufig mit einem hohen ki-67- Index sowie der Mutation des TP53 assoziiert (14).

Tabelle 1: Molekulare Subtypen des Mammakarzinoms nach St. Gallen Konferenz 2011 (21)

Molekular-biologische Subtypen	Klinisch-pathologische Definition	Behandlung
Luminal A	Luminal A ER-PgR: positiv HER2: negativ Ki67: tief, $\leq 14\%$	Hormontherapie selten Indikation für eine Chemotherapie gemäss prognostischen Parametern, insbesondere Lymphknotenbefall
Luminal B	Luminal B, HER2: negativ ER: positiv, PgR: positiv/negativ HER2: negativ Ki67: erhöht Luminal B, HER2: positiv Idem + HER2: positiv	Hormontherapie Chemotherapie gemäss prognostischen Parametern, Expressionsniveau der Hormonrezeptoren und gemäss Wunsch der Patientin Chemotherapie + Anti-HER2, danach Hormontherapie
HER2: überexprimiert	HER2: positiv, non luminal ER-PgR: negativ HER2: überexprimiert oder erhöht	Chemotherapie + Anti-HER2 mit Ausnahme kleiner Tumore < 5mm (pT1a)
Basal Like	Triple negativ ER-PgR: negativ HER2: negativ	Chemotherapie

1.2 Theoretische Grundlagen der Hormonrezeptoren sowie der Expression und die Bedeutung des G-Protein-gekoppelten Östrogenrezeptors 1 (GPER-1)

1.2.1 Östrogen- und Progesteronrezeptor

Für die Diagnostik wie auch für die Therapie ist die histologische Bestimmung der Hormonrezeptoren wichtig.

Der erste Östrogenrezeptor (ER), der spätere ER α , wurde 1973 charakterisiert (22). 1996 wurde der zweite Östrogenrezeptor ER β entdeckt (23,24).

Beide sind nukleare Rezeptoren der Steroidrezeptorfamilie und werden durch Östrogen (bzw. bei dem Progesteronrezeptor durch Progesteron) aktiviert. Diese Hormone docken an die Bindungsstellen der Rezeptoren an, der Ligand-Rezeptor-

Komplex bindet darauffolgend an bestimmten Stellen auf der DNA, wodurch es zur Transkription bestimmter Gene kommt, die verstärkt exprimiert werden.

Anschließend wird das Wachstumssignal ins Zellinnere weitergeleitet und so die Teilung von Zellen, wie auch von den Krebszellen angeregt (23,25).

Die Funktionsweise der Rezeptoren wird anhand des ERs veranschaulicht. ER α und ER β bestehen aus sechs Domänen. Die amino-terminale A/B- Domäne, welche die Aktivierungsfunktion-1 enthält und für eine ligandenunabhängige Aktivierung der Transkription zuständig ist (26). Die C-Domäne, die auch die DNA-Bindungsdomäne (DBD) genannt wird, und mit hoher Spezifität an das Östrogen Response Element (estrogen- reponse element, ERE), eine typische palindromische Basensequenz der DNA in östrogensensitiven Zielgenen, bindet. Die D-Domäne ist einerseits für die Bindung der Hitzeschockproteine (HSP), andererseits für die Dimerisierung verantwortlich. Die E-Domäne beinhaltet eine ligandenabhängige Transaktivierungsregion AF2, bei der durch Östrogene oder synthetische Agonisten die Transkription in den Zielgenen aktiviert wird. Für die sechste Domäne, die F-Domäne, die am carboxyl-terminalen Ende des Rezeptors liegt, konnte die Funktion bis heute noch nicht identifiziert werden. AF-1 und AF-2 führen zur Initiation der Transkription. Nach Bindung des Liganden kann es einerseits zu Homodimeren ER $\alpha\alpha$ oder $\beta\beta$ oder zu Heterodimeren ER $\alpha\beta$ kommen, da beide Rezeptoren in vielen Zellen gleichzeitig exprimiert werden (27,28,29,30).

Die lipophilen Steroidhormone Östrogene diffundieren in die Zielzelle, um dort an den intrazellulären ER zu binden. Die ER liegen während der Abwesenheit der Liganden an HSP gebunden vor. Nach der Ligandenbindung kommt es zur Abspaltung der HSP und daraus folgend zu einer Konformationsänderung. Es kann zu einer Homo- oder Heterodimerisierung des Rezeptors kommen. Der nun aktivierte Hormon-Rezeptor-Komplex transloziert aus dem Zytoplasma in den Zellkern und bindet an palindromische DNA- Sequenzen der Zielgene, den sogenannten ERE. Durch diese Interaktion wird die Transkription dieser Gene aktiviert und führt zu einer veränderten Expression der von diesem Gen kodierten Proteine. Durch verschiedenste modulierende Proteine wird dieser Prozess zum einen durch Co-Aktivatoren über direkte Interaktionen mit dem Rezeptor verstärkt oder jedoch durch Co- Repressoren abgebremst. Dieser Weg wird als direkte genomische Signalübertragung bezeichnet (31).

Jedoch sind ERs auch ohne direkte Bindung an die DNA- Sequenz in der Lage, die Genexpression zu beeinflussen. Über den indirekten genomischen Mechanismus kommt es zu einer Wechselwirkung, dem „crosstalk“, zwischen einem monomeren ER- Ligandenkomplex mit anderen DNA- bindenden Transkriptionsfaktoren, wie dem „activator-protein-1“ (AP-1) oder Specificity protein 1 (SP-1). Es findet eine Protein-Protein- Interaktion statt, die die Transkriptionsmaschinerie aktiviert.

Der Progesteronrezeptor (PR) existiert in zwei Isoformen, PR-A und PR-B, die in einem Gen auf dem Chromosom 11q22-23 codiert sind. Der Progesteronrezeptor gehört ebenfalls zur Familie der Nuklearrezeptoren und ist in seiner Struktur und Funktion ähnlich (31). Beide Isoformen führen eine gegensätzliche Funktion aus. Während der PR-A, die östrogen- und progesteroninduzierte Proliferation hemmt, wird diese durch den PR-B unterstützt (32). Die Aktivierung des PRs erfolgt wie bei dem ER einerseits ligandenabhängig, andererseits ligandenunabhängig (31).

1.2.2 G-Protein-gekoppelter Östrogenrezeptor-1

Verschiedene Studien haben die Existenz eines 7-transmembranen G-Protein-gekoppelten Östrogenrezeptors (GPCR) gezeigt, welcher ebenso sehr schnelle Östrogeneffekte vermitteln kann (24).

In den späten 1990ern wurde ein mutmaßlicher GPCR von verschiedenen Arbeitsgruppen geklont. Der in diesen Studien geklonte GPCR zeigt eine geringere Homologie zu den anderen GPCR und wurde erstmals GPR30 genannt. Die GPR30 mRNA wird in vielen Geweben exprimiert, wie der Mamma, Plazenta, Lunge, Leber, Prostata und Ovarien. Am Anfang war für diesen Rezeptor noch kein Ligand bekannt, sodass er zu den Orphan-Rezeptoren gezählt wurde. Im Jahr 2000 wurde durch viele Experimente und Studien eine mögliche Funktion des Rezeptors entschlüsselt. 2007 wurde der GPR30 durch die International Union of Basic and Clinical Pharmacology (IUPHAR) offiziell in den G-protein-coupled estrogen receptor-1 (GPER-1) umbenannt (33).

Er liegt auf dem Chromosomen 7p22.3 und besteht aus sieben α - helikalen transmembranen Domänen, in dem das amino-terminale Ende für die Ligandenbindung extrazellulär und das carboxy-terminale G-Protein-bindende Ende intrazellulär gelegen ist. Eine wichtige Bedeutung hat der GPER-1 bei dem Mammakarzinom, da er in 50-60% der Brusttumoren exprimiert wird (34). Jedoch

kommt er auch bei anderen Karzinomen, wie dem Endometrium-, Ovar- und Schilddrüsenkarzinom vor (30).

Studien legen nahe, dass GPER-1 die Regulation von Tumorzellproliferation beeinflusst (35). Diese Regulationen beinhalten die Aktivierung von Signalwegen, welche im Zell-Zyklus, der Apoptose, der Autophagozytose und Prozessen wie Angiogenese beteiligt sind, welches in der Transkription von Zielzellen resultiert und für die Krebsentwicklung erforderlich ist (36).

Zur Lokalisation gibt es Studien, die zum einen sagen, GPER-1 ist vor allem im Zellkern, zum anderen aber auch im Zytoplasma im Endoplasmatischen Retikulum exprimiert (24). Dies kann durch den retrograden Transport von der Plasmamembran zum Zellkern erklärt werden. Laut neuester Studien hat die Lokalisation des GPER-1 auch eine klinisch pathologische Bedeutung. Die in dem Zytoplasma gelegenen GPER-1 korrelieren mit niedrigeren Tumorstadien und einem Hormonrezeptor-positiven Mammakarzinom, wohingegen die im Zellkern lokalisierten GPER-1 mit einem schlecht differenzierten Karzinom und damit einer schlechteren Prognose einhergeht. Er ist häufig beim triple negative breast cancer (TNBC) nachweisbar (30).

Der GPER-1 zählt zu den Non-genomic Rezeptoren, was bedeutet, dass die Reaktion innerhalb von Sekunden bis Minuten stattfindet. Östradiol (E2) bindet an den GPER-1, wodurch die schnellen nicht-genomischen aber auch genomischen Effekte induziert werden, welche die Transkription verschiedener Gene regulieren. Die Expression des Zielgens wird dadurch unabhängig von ER α reguliert (36). Durch die Aktivierung des GPER-1 mittels Östrogens wird einerseits die Phosphorylierung der „extracellular-signal-regulated kinases“ ERK1/2 reguliert (37), andererseits die Mobilisierung intrazellulären Kalziums, der Anstieg des cAMP (zyklische Adenosinmonophosphat) sowie die PI3K- Synthese (Phosphatidylinositol-3-kinase) beobachtet (38,39,40).

Des Weiteren wird als Zielgen unter anderem das c-Fos identifiziert, welches durch Up-regulation zur Proliferation von Krebszellen führt. Das Protoonkogen c-Fos spielt eine wichtige Rolle in der Regulation von normalem Zellwachstum, -differenzierung und Zelltransformationsprozessen (41,42). In Studien konnte gezeigt werden, dass die Liganden Östron und Östriol eine geringe Affinität zu dem Rezeptor haben und Progesteron, Testosteron und Cortisol gar nicht binden. Interessanterweise konnte

gezeigt werden, dass GPER-1 durch Östrogen-Antagonisten wie SERM und SERD aktiviert wird (24,43).

1.3 Therapie des Mammakarzinoms

1.3.1 Allgemeines zu Therapieoptionen

Es gibt keine „Standard-Therapie“, da die Brustkrebserkrankung infolge der verschiedenen Subtypen sehr individualisiert für jeden einzelnen Patienten behandelt wird. Die Therapie besteht generell aus verschiedenen Therapieoptionen (44).

In mehr als 70% der Fälle wird eine brusterhaltende Operation (BEO), in den restlichen Fällen eine Mastektomie durchgeführt. Nach der Operation, vor allem einer BEO aber auch nach der Mastektomie im Stadium T3/T4 oder bei Lymphknotenmetastasen wird die betroffene Brust bestrahlt. Gegebenenfalls erfolgt anschließend je nach Tumorsubtyp eine adjuvante Chemotherapie und/ oder endokrine Therapie. Die Antikörpertherapie mit Trastuzumab und Pertuzumab bzw. mit Bevacizumab kann auch angewendet werden (15,45).

1.3.2 Endokrine Therapie

Bei einer mindestens > 1% Steroidhormonrezeptor Positivität ist bei allen Tumoren die endokrine Therapie indiziert (18). In den 1970er-Jahren wurde Tamoxifen (TAM) zur Behandlung des Mammakarzinoms entdeckt. TAM gehört zu der Gruppe der selektiven Östrogen-Modulatoren (SERM) (46). Tamoxifen hat seine Wirkung direkt an dem ER, zeigt jedoch ein duales Wirkprofil. Einerseits wirkt es antagonistisch an den Rezeptoren der Brusttumorzellen und hemmt diese kompetitiv, wodurch es zur Wachstumshemmung hormonabhängiger Zellen kommt. Am Endometrium hat TAM jedoch eine leicht agonistische östrogene Wirkung, sodass zu den Nebenwirkungen die Veränderung des Endometriums zählen kann. TAM ist bei Frauen in der Prä- und Postmenopause zur Therapie zugelassen (18).

Fulvestrant gehört zu den Antiöstrogenen und hat eine ähnliche Struktur wie Östradiol und bindet mit ähnlicher Affinität an dem ER, sodass Östrogene nicht mehr binden können und führt damit zu einer Downregulation, sodass die Dichte der Rezeptoren gesenkt wird. Es wird zur Behandlung bei einem Rezidiv während oder nach adjuvanter endokriner Therapie zugelassen oder bei Progress der Erkrankung unter der Behandlung mit einem anderen Antiöstrogen (18).

In der Postmenopause wird Östrogen nicht mehr in den Ovarien, sondern in geringen Mengen in Fett-, Nebennieren-, Muskel- und Brustdrüsengewebe produziert. Dabei wird aus Androgenen durch das Enzym Aromatase Östrogen synthetisiert.

Aromataseinhibitoren wie Anastrozol, Letrozol oder Exemestan unterbinden dabei den letzten Schritt der Östrogensynthese in diesen Geweben. So wird die Umwandlung der androgenen Vorstufe in Östrogene verhindert. Diese Blockade der peripheren Östrogenbildung würde aber in der Prämenopause zur Aktivierung der Gonadotropinachse führen und damit eine ovarielle Überstimulation auslösen. Von daher sind Aromataseinhibitoren nur in der Postmenopause zugelassen, beziehungsweise in der Prämenopause nur in Verbindung mit einer ovariellen medikamentösen oder operativen Suppression der Ovarien (47,48).

1.3.3 Tamoxifen-Resistenz und die Bedeutung des GPER-1

TAM inhibiert die Östrogen - Wirkung durch eine kompetitive Bindung des ER, wodurch es die E2 abhängige Gentranskription, Zellproliferation und damit das Tumorwachstum hemmt. Die Affinität des Tamoxifen ist jedoch geringer als die des Östrogens. Die Bindung von TAM an ER führt grundsätzlich zu einem verminderten Tumorwachstum.

Durch TAM konnte das Risiko der Entwicklung von ER α positivem Brustkarzinom bei prä- und postmenopausalen Frauen bis zu 50% reduziert werden. Die tägliche Einnahme von TAM reduziert das Auftreten eines Mammakarzinoms, eines kontralateralen Mammakarzinoms und verringert die Wahrscheinlichkeit der Rezidivbildung.

Die TAM-Therapie verhindert die Entstehung des ER α positiven Brustkrebs nicht nur während der Therapiezeit, sondern auch nach Beendigung der Behandlung. Neuere Studien haben gezeigt, dass eine Verlängerung der TAM-Behandlung auf zehn Jahre das Risiko eines Wiederauftretens von Brustkrebs in ER α - positiven Fällen weiter reduziert (30).

Jedoch gibt es auch mehrere Studien, die herausfanden, dass 40% der Patienten unter der adjuvanten TAM-Therapie einen Rückfall erlitten, es wird eine TAM-Resistenz entwickelt (49). Bei der TAM-Resistenz scheint die Expression des GPER-1 eine wichtige Rolle zu spielen (50).

Wie bereits erwähnt wirkt TAM als Aktivator für GPER-1. TAM und sein aktiver Metabolit 4 Hydroxytamoxifen besitzen wie Östrogen eine hohe Bindungsaffinität für den GPER-1 und ahmen die schnellen non-genomic Signalwege in Brustkrebszellen nach, welche die Aktivierung der ERK, der PI3K, die Kalzium Mobilisation, sowie die cAMP Produktion beinhalten. Daraus folgend werden Östrogene und TAM als GPER-1 Agonist angesehen. Die Aktivierung des GPER-1 wird auch mit als Ursache der Tumorprogression betrachtet und ist daher wichtig für die Therapie des Mammakarzinoms (30).

Verschiedene Studien haben aufgezeigt, dass eine Überexpression von GPER-1 im Brustkrebs positiv mit dem Wachstum, der Tumorgroße bzw. der Bildung von Metastasen korreliert. Zudem zeigten Studien, dass bei GPER-1 positiven Patienten, die TAM erhalten, ein Crosstalk zwischen dem GPER-1 und dem EGFR Signalweg aktiviert wird. Dieser Crosstalk löst ein stärkeres Zellwachstum sowie eine Zunahme der Metastasenbildung durch eine ERK1/2 vermittelte Transkription aus.

Diesbezüglich haben verschiedene Studien gezeigt, dass sich bei Patientinnen mit GPER-1 positiven Tumor unter der Therapie mit TAM die GPER-1 Expression erhöht, und das Gesamtüberleben, im Vergleich zu Patientinnen ohne TAM, abnimmt. Ignatov und seine Kollegen zeigten durch ihre Studie jedoch auch, dass GPER-1 Expression für sich gesehen eher tendenziell mit einem guten rückfallfreien Überleben verbunden ist, allerdings nur dann, wenn die Patienten keine Therapie mit TAM erhielten (51).

1.4 Fragestellung der Arbeit

Das Ziel unserer Untersuchung war eine mögliche Korrelation zwischen der Expression des GPER-1 und den Prognosefaktoren des Tumors und damit den Einfluss der GPER-1 Expression auf das Gesamtüberleben der Patientinnen mit Mammakarzinom nachzuweisen.

Als weiteren Punkt untersuchten wir prospektiv den Einfluss der GPER-1 Expression auf die Wirksamkeit der endokrinen Therapie und damit den Einfluss der GPER-1 Expression auf das Outcome der Patientinnen abhängig ihrer Therapie.

Dies geschah vor dem Hintergrund, dass es unter der endokrinen Therapie des Mammakarzinoms immer wieder zu Resistenzentwicklungen kommt und darauffolgend einem Therapieversagen und einer erhöhten

Rezidivwahrscheinlichkeit. Langfristig soll diese Studie einen Beitrag zur Optimierung der Therapieauswahl für die endokrine Therapie bei Patientinnen mit HR positiven Mammakarzinom leisten.

Um dies zu erreichen, wurde eine prospektive Kohortenstudie durchgeführt, in der die Patientinnen mit invasivem, nicht metastasiertem Mammakarzinom von 2014 bis 2018 der Universitätsklinik Magdeburg aufgenommen wurden, um die prognostische Rolle der GPER-1 Expression im Mammakarzinom und dessen mögliche Bedeutung für die Entstehung einer Tamoxifen-Resistenz detaillierter zu untersuchen.

2. Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Im Rahmen der vorliegenden prospektiven Kohortenstudie wurden die klinischen Daten von allen Patientinnen mit invasivem, nicht metastasiertem Mammakarzinom, die an der Universitätsfrauenklinik der Otto-von-Guericke Universität Magdeburg zwischen 2014 bis 2017 diagnostiziert wurden, ausgewertet. Insgesamt wurden 442 Patientinnen evaluiert. Die Patientenakten und die Epikrisen dieser Patientinnen wurden studiert und die bedeutendsten prognostischen klinischen und histopathologischen Charakteristika erfasst. Dazu gehören: das Patientenalter, die Histologie des Mammakarzinoms, das Tumorgrading, der Hormonrezeptorstatus, der HER2-Rezeptorstatus, die Ki-67 Proliferation, die Tumorgröße, der Lymphknotenbefall, die Lymph- und Vaskulärinvasion, die Operationstechnik und die Therapie. Gemäß den Vorschriften der Ethikkommission der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg, Deutschland, lag ein Ethikvotum (Nr. 03/09) vor.

2.2 Histologische Aufarbeitungen der Gewebeproben

Das Brustdrüsengewebe, zu 3 µm zurechtgeschnittene Abschnitte und in 10% neutralem Formalin fixiert, wurde in Paraffin eingebettet. Durch den technischen Laborassistent wurde das Gewebe mit Hämotoxylin und Eosin gefärbt und durch einen erfahrenen Pathologen untersucht. Dadurch konnten die Tumore immunzytochemisch analysiert und nach den o.g. Parametern charakterisiert werden.

Definitionen:

- Histologisches Grading:

Das Grading wurde in drei Stufen eingeteilt, wobei mikroskopisch der Differenzierungsgrad der Zellen untersucht wurde. Die Tumore wurden danach in G1 (gut differenziert), G2 (mäßig differenziert) bis G3 (schlecht differenziert) unterteilt.

- Östrogen und Progesteronrezeptorstatus:

Als hormonrezeptorpositiv wurden Tumore definiert, bei denen immunhistochemisch mindestens 1% Hormonrezeptorexpression im Tumorgewebe nachgewiesen wurde. Die restlichen Fälle wurden als hormonrezeptornegativ klassifiziert.

- HER2-Status:

Von einem HER2- positiven Status spricht man, wenn in mindestens 30% der invasiven Tumorzellen eine gleichmäßige intensive immunhistochemische Reaktion darstellbar ist (=HER2: 3+) oder bei schwacher bis mäßiger Membranreaktion in >10% der Zellen bzw. starker Reaktion in weniger als 30% der Zellen (=HER2: 2+) bei gleichzeitig positivem FISH- oder CISH Test.

HER2 negativ gelten alle Tumore mit immunhistochemischem Score 0 oder 1 (keine oder schwache Membranreaktion) oder HER2: 2+ Nachweis bei negativem FISH- oder CISH Test.

- Tumorgröße und Lymphknotenbefall:

Zur Erfassung der Tumorgröße wurde die pathologische Tumorgröße nach histologischer Aufarbeitung des Tumors verwendet. Alle Patientinnen, die eine neoadjuvante Therapie bekamen, wurden ebenso in die Untersuchung einbezogen.

Wir unterteilten die Tumore nach ihrer Tumorgröße in zwei Gruppen. Die erste Gruppe bestand aus Tumoren ≤ 2 cm und die zweite Gruppe aus Tumoren > 2 cm.

Bezüglich des Lymphknotenbefalls wurden die Patientinnen in nodal-positiv, mit mindestens einer Lymphknotenmetastase beziehungsweise nodal-negativ, also Patientinnen ohne Metastasennachweis in den Lymphknoten eingeteilt.

- Überlebensanalyse:

Der primäre Outcome beschreibt das krankheitsfreie Überleben (disease-free survival (DFS)), definiert als die Zeit von der Diagnosestellung bis zum loco-regionalen Rezidiv und/oder der Fernmetastasierung und/oder dem krebsspezifischen Tod. Das loco-regionale Rezidiv beinhaltet das erneute Auftreten des Karzinoms in der gleichen Brust, gleichseitigen Thoraxwand oder in den ipsilateralen regionalen Lymphknoten. Der fernmetastasierte Rückfall beschreibt kontralaterale Lymphknotenmetastasen, Rezidiv im internen Brustbereich sowie Fernmetastasen im Knochen, Gehirn, in der Leber, Lunge, welche die Pleura und Lymphangiosis carcinomatosa einschließt, und weitere, wie Haut außerhalb des Brustbereichs oder Peritonealgewebe. Das Follow-Up endete mit dem Tod der Patientin oder den letzten zugänglichen Informationen bzw. dem letzten Follow-Up am 01.05.2018. Der mediane Follow-Up betrug 33 Monate (1 bis 64 Monate).

2.3 GPER-1 Expression und sein pathologischer Nachweis

Seit Januar 2014 wird in unserer Klinik der pathologische Nachweis von GPER-1 Expression während der primären Diagnostik bei Brustkrebspatientinnen routinemäßig durchgeführt. Die Expression wurde mittels eines Scores ausgewertet. Der Score setzt sich aus der Intensität der Färbung und der Extensität, das heißt dem prozentigen Anteil der gefärbten Zellen, zusammen und wird durch die immunhistochemische Färbung bestimmt (Tabelle 1). Die Extensität wird in 0 (keine positiven Zellen), 1 (<10%), 2 (10-50%) und 3 (>50% positive Zellen) eingeteilt. Die Intensität wird unterteilt in 0 (negativ) 1 (leichte Färbung), 2 (moderate Färbung) und 3 (starke Färbung). Diese beiden Kategorien werden multipliziert und ergeben den immunhistochemischen Score (IHS), welcher von 0-9 geht. GPER-1 positive Expression wird ab einem Wert von $IHS \geq 3$ angenommen. In Abbildung 1 sind Beispiele verschiedener GPER-1 Expressionsmuster dargestellt.

Die GPER-1 Expression wurde in dem Paraffin eingebettetem Gewebe bestimmt.

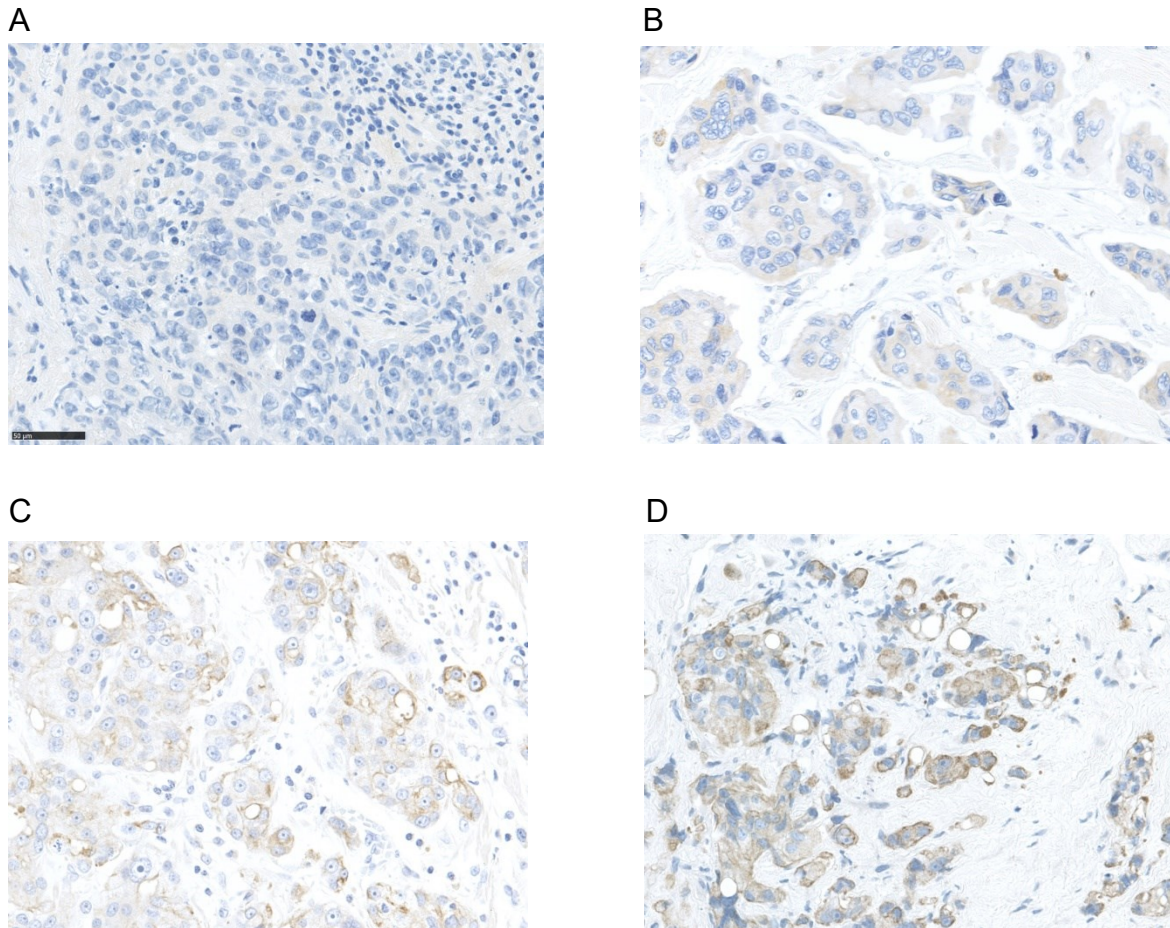


Abbildung 1 GPER-1 Expression in Brustkrebsgewebe. A) GPER-1 negative Expression B) GPER-1 schwache Expression C) GPER-1 moderate Expression D) GPER-1 starke Expression.

Zuerst wurde 3 µm paraffin-eingelegtes und in Formalin fixiertes Brustkrebsgewebe auf dem SuperFrost Plus Objektträger (Menzel, Braunschweig, Deutschland) befestigt und über Nacht getrocknet. Danach wurde die Immunfärbung mit Hilfe des Benchmark XT (Ventana, Unterhaching, Deutschland) durchgeführt. Das zu untersuchende Gewebe auf den Objektträgern wurde mit Protease I für 10 min vorbehandelt und antigendemaskiert, gefolgt von der 32-minütigen Inkubation bei 37 Grad mit affinitätsgereinigtem Kaninchen- Antikörper (Herford, Deutschland) gegen GPER-1 auf 1:500 verdünnt. Diese Reaktion konnte durch den 3,3- Diaminobenzidin (DAB) Nachweis veranschaulicht und mit Hämotoxylin gegengefärbt werden. Zum Schluss wurde das gefärbte Gewebe im Eindeckmedium eingebettet und mit dem Deckglas abgedeckt.

Der GPER-1 Grenzwert der Expression wurde unter Verwendung der GPER-1-Expression im normalen Brustgewebe, das den invasiven Brustkrebs umgibt, bestimmt. Spezifische Grenzwerte des IHS wurden für die statistische Auswertung der prognostischen Signifikanz in den Kaplan-Maier-Tests sowie für die Korrelation

von GPER-1 mit den klinisch-pathologischen Merkmalen verwendet. Daraus folgend wurde die GPER-1 Überexpression in Tumoren bei IHS ≥ 3 definiert. In der Tabelle 2 wird das Score System veranschaulicht.

Tabelle 2: IHS Score von GPER-1

Intensität IHS Score	Extensität			
0 (negativ)	X	0 (keine pos. Z.)	=	0 – 2 = negative GPER Expression
1 (schwach positiv)		1 (<10% positive Zellen)		3 – 9 = positive GPER Expression
2 (moderat positiv)		2 (10-50% positive Zellen)		
3 (stark positiv)		3 (> 50% positive Zellen)		

2.4 Statistische Auswertung

Die statistischen Kalkulationen wurden durch das IBM SPSS Statistics Version 22.0 durchgeführt. Die Verbindung zwischen GPER-1 und verschiedenen Tumor- und Patientenvariablen wurde mit dem Chi²-Test ausgewertet, wenn die Stichprobenverteilung der Teststatistik der theoretischen Chi-Verteilung entsprach, andernfalls wurde der exakte Fisher-Test verwendet. Das DFS und das Gesamtüberleben (overall survival, OS) dienten als Ausgangspunkte. DFS Analysen berücksichtigten Rückfälle oder den Brustkrebs-spezifischen Tod. Patienten, die durch eine andere Krankheit starben oder bei denen zu wenige Daten bis zum Studienende verfügbar waren, wurden zensiert. Die Überlebenszeitdaten wurden durch die Kaplan-Meier-Methode analysiert. Die Übereinstimmung der Überlebenskurven wurde durch den Log-rank-Test verglichen. Durch den Cox-Regressions-Test konnte der Einfluss mehrerer Variablen, wie die operative und die neo- bzw. adjuvante Therapie, das Alter, der Metastasenstatus und Resektionsgrad auf die Überlebenszeit untersucht werden. Ergebnisse wurden als statistisch signifikant angesehen, wenn der p-Wert < 0.05 war.

3. Ergebnisse

3.1 Korrelation zwischen der GPER-1 Expression und den klinischen und pathologischen Charakteristika in unserem Patientenkollektiv

3.1.1 GPER-1 Expression

Wir konnten von den 442 untersuchten Patientinnen, die wir in den o.g. Zeitraum in unserer Klinik aufgenommen hatten, sieben Fälle nicht auswerten, da bei ihnen der Nachweis der GPER-1 Expression technisch nicht möglich war. So gingen in unsere Untersuchung 435 Patienten ein, die in GPER-1 positiv oder GPER-1 negativ unterteilt wurden.

In 352 von 435 (80,5%) Patienten wurde eine positive GPER-1 Expression nachgewiesen und in den restlichen 83 (19,1%) eine negative GPER-1 Expression. In der weiteren Auswertung der Ergebnisse beziehen wir die Korrelation der Prognosefaktoren auf die Zahl der Patienten, bei denen ein Nachweis der GPER-1 Expression technisch möglich war.

3.1.2 Histologisches Grading und GPER-1 Expression

Von unseren 435 Patientinnen zeigten 48 Patientinnen (11%) einen gut differenzierten G1-Tumor, 140 (32%) Patientinnen einen undifferenzierten G3-Tumor und bei den restlichen 214 (49%) Patientinnen konnte ein mäßig differenzierter G2-Tumor nachgewiesen werden.

Ein G1-Tumor fand sich bei 45 (12,8%) von 352 der GPER-1-positiven Patientinnen, dagegen nur bei 3 (3,6 %) von 83 der GPER-1 negativen Patientinnen, wie in der Abbildung 2 veranschaulicht.

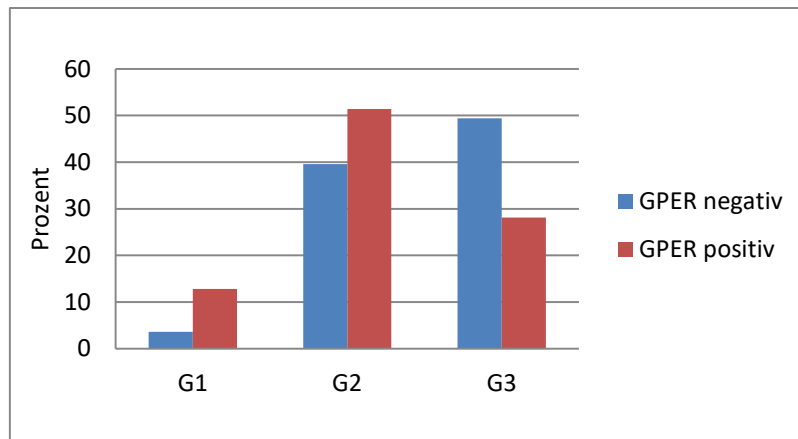


Abbildung 2: GPER-1 Expression und histologisches Grading

Ähnlich, wenn auch nicht ganz so eindeutig, zeigt sich der Trend bei den mäßig differenzierten G2-Tumoren, wo 181 (51,4%) von 352 Fällen GPER-1 positiv waren und nur 33 (39,6 %) von 83 GPER-1 negativ. Im Gegensatz dazu wurden G3-Tumore in nur 99 (28,1%) von 352 der GPER-1 positiven Patientinnen festgestellt und bei 33 (49,4 %) von 83 aller GPER-1 negativen Patienten.

Die GPER-1 Expression korreliert signifikant mit dem histologischen Grading ($p < 0.0001$) und die GPER-1 Expression wird häufiger bei G1- und G2-Tumoren beobachtet.

3.1.3 Östrogenrezeptorstatus und GPER-1 Expression

In unserer Untersuchung konnte bei 335 (77%) Patientinnen von 435 Patientinnen ein positiver Östrogenrezeptor (ER) nachgewiesen werden. ER-positive Tumore sprechen gut auf eine endokrine Therapie an und gehen generell eher mit einer günstigen Prognose einher.

Bei 83 (19%) Patientinnen konnten kein ER im Tumorgewebe nachgewiesen werden. Sie werden als ER-negativ bezeichnet. In 17 Fällen (4%) konnte bei der Auswertung der 435 Patientendaten kein Hinweis in unserer Dokumentation auf den Hormonrezeptorstatus evaluiert werden. Wie in Abbildung 3 dargestellt, konnten bei 294 (83,5%) GPER-1 positiven Patienten ein ER-positiver Tumor festgestellt werden. Bei 43 (12,2%) Patienten mit GPER-1 Expression konnte kein ER nachgewiesen werden ($p < 0.0001$).

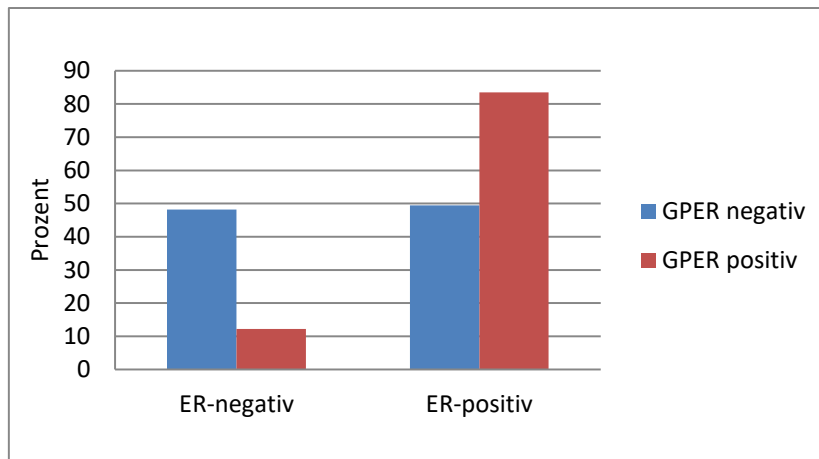


Abbildung 3: GPER-1 Expression und Östrogenrezeptorstatus

GPER-1 negative Patienten haben dagegen eine ähnliche Wahrscheinlichkeit an einem ER-positiven oder -negativen Mammakarzinom zu erkranken. Bei 40 (48,2 %) von 83 Patientinnen konnte kein ER nachgewiesen werden und bei 41 (49,4%) konnte eine ER-Positivität aufgezeigt werden.

3.1.4 Progesteronrezeptorstatus und GPER-1 Expression

Von 435 Patientinnen konnten bei 305 (70%) Patienten Progesteronrezeptoren (PR) nachgewiesen werden. Als Progesteron-negativ wurden 113 (26%) Patientinnen bezeichnet, da bei ihnen kein Nachweis von PR in der histologischen Aufarbeitung gefunden wurde. Bei weiteren 17 (4%) Fällen fehlte die Dokumentation des PR - Status.

Bei dem PR verhält es sich mit der Korrelation zu der GPER-1 Expression ähnlich dem des ER. In dieser Arbeit konnten wir bei 269 von 352, also in 76,4% der GPER-1 positiven Patienten einen positiven PRstatus nachweisen. Dagegen zeigten nur 68, also 19,3% der Patientinnen mit GPER-1 Expression einen negativen PRstatus (Abb. 4; $p < 0.0001$).

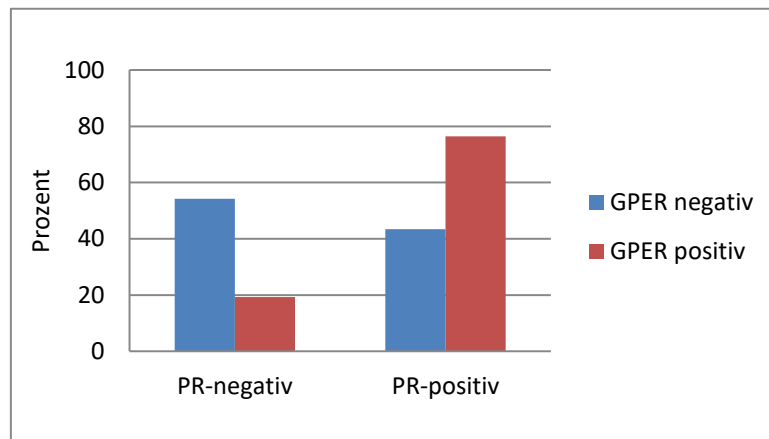


Abbildung 4: GPER-1 Expression und Progesteronrezeptorstatus

Damit können wir beweisen, dass die GPER-1 Expression mit einem positiven PR-status korreliert. Wie auch bei dem ER geht der positive Nachweis von PR mit einer günstigen Prognose bezüglich des Therapieansprechens auf eine endokrine Therapie und das Gesamtüberleben einher.

GPER-1 negative Patienten zeigen eine annähernd ähnliche Wahrscheinlichkeit für PR- positive und -negative Tumore. In unserer Studie zeigte sich für die Patienten ohne GPER-1 Expression eine PR-Positivität bei 36 (43,4%) und kein Nachweis von PR bei 45 (54,2%) von 83 Patientinnen.

3.1.5 HER2 Rezeptorstatus und GPER-1 Expression

In unserem eigenen Patientengut konnten bei 71 (16,3%) Patientinnen von 435 Patientinnen ein positiver HER2 Status dokumentiert werden. Bei 340 (78,2%) Patientinnen dagegen konnte kein HER2 Nachweis erbracht werden. In 24 (5,5%) Patientenfällen fehlte der Nachweis des HER2 Status.

Wie in Abbildung 5 dargestellt, konnte bei 271 (77%) Patienten mit positiver GPER-1 Expression kein HER2 Status festgestellt werden, 59 (16,8%) Patienten mit GPER1-Expression waren HER2 positiv.

Bei Patienten ohne GPER-1 Expression sind 69 (83,1%) Patienten HER2 negativ und 12 (14,5%) HER2 positiv ($p=0.623$).

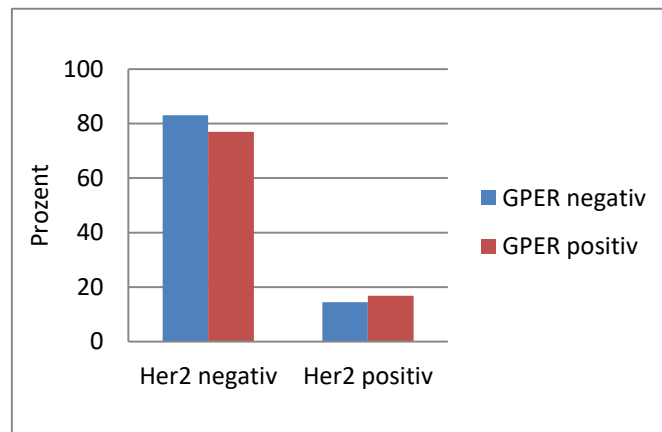


Abbildung 5: GPER-1 Expression und HER2- Status

Somit zeigt sich nachweislich keine signifikante Korrelation zwischen dem HER2-Status und der GPER-1 Expression.

3.1.6 Tumorgröße und Lymphknotenstatus verglichen zur GPER- 1 Expression

Weiterhin untersuchten wir den Zusammenhang zwischen der Tumorgröße sowie dem Lymphknotenstatus und der GPER-1 Expression.

Die Tumorgröße und der positive Lymphknotenbefall gehen mit einer ungünstigen Tumorbiologie sowie Prognose bezüglich des Gesamtüberlebens einher. Für unsere eigenen Untersuchungen unterteilten wir die Tumore in ≤ 2 cm (T1-Tumor) und < 2 cm (T2-Tumor), unabhängig einer möglichen neoadjuvanten Therapie.

Einen Tumor ≤ 2 cm wiesen 221 (50,8%) von 435 Patientinnen auf. In die Kategorie der T2 Tumore > 2 cm wurden 189 (43,4%) Patientinnen eingeteilt. In 25 (5,7%) Fällen konnte die Tumorgröße nicht mehr recherchiert werden. Bei Patienten mit einer positiven GPER-1 Expression traten T1-Tumore mit 182 (51,7%) ein wenig häufiger auf als T2-Tumore mit 149 (42,3%) von 352 Patientinnen. Bei Patientinnen mit GPER-1 negativer Expression ist die Wahrscheinlichkeit annähernd gleich. In der Kategorie der kleinen Tumore wurde bei 39 (47%) und bei den großen Tumoren bei 40 (48,2%) von 83 Patientinnen, wie in Abbildung 6 dargestellt, keine GPER-1 Expression dokumentiert ($p=0.382$).

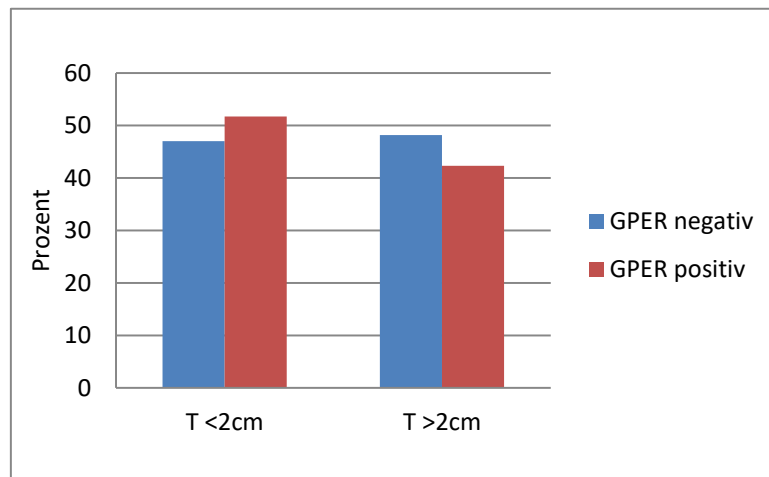


Abbildung 6: GPER-1 Expression und TumorgroÙe

Bei der Definition des Lymphknotenstatus unterteilten wir unser Patientenkollektiv in nodal-positive Patientinnen mit mindestens einem befallenen Lymphknoten vs. nodal-negativ, welches bedeutet, es wurde kein Befall von Lymphknoten bei der histologischen Aufarbeitung nachgewiesen.

Von unseren 435 Patientinnen wurde bei 130 (29,9%) Patientinnen ein positiver Lymphknotenbefall festgestellt. Bei 242 (55,6%) Patientinnen konnte kein Befall der Lymphknoten nachgewiesen werden. Bei 63 (14,5%) der Patientinnen fehlte der Nachweis des Lymphknotenbefalls. Abbildung 7 zeigt, dass 108 (30,7%) von 352 Patientinnen mit einer positiven GPER-1 Expression einen positiven Lymphknotenstatus und 187 (53,1%) einen negativen Lymphknotenstatus aufwiesen. Der Lymphknotenbefall in unserem Patientengut ohne GPER-1 Expression war bei 22 (26,5%) von 83 Patientinnen nachweisbar und bei 55 (66,3%) wurden keine befallenen Lymphknoten detektiert ($p=0.227$).

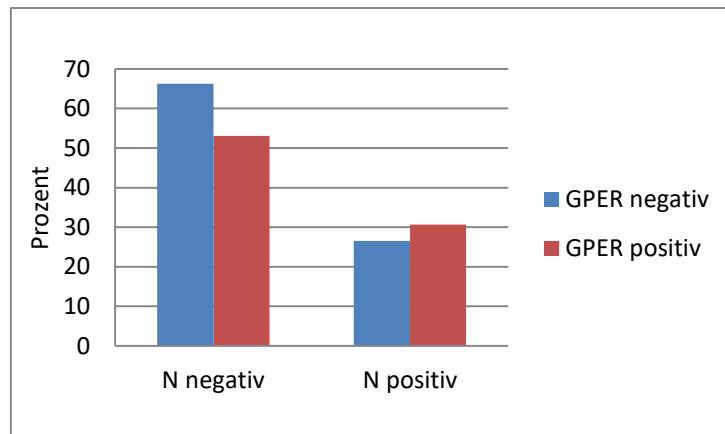


Abbildung 7: GPER-1 Expression und Lymphknotenbefall

Somit zeigte sich in unserem Patientengut kein signifikanter Zusammenhang zwischen GPER-1 Expression und Lymphknotenstatus bzw. Tumorgröße

3.1.7 GPER-1 Expression und der Ki-67 Nachweis

Wie in Abbildung 8 veranschaulicht, lag die Ki-67 Expression bei GPER-1 positiven Patientinnen in unserem Patientenkollektiv im Median bei 24,2% (Range 2-28%). Patientinnen ohne GPER-1 Nachweis dagegen hatten mit 38,3% im Median bei einem Range von 5-95% einen deutlich höheren Ki-67 Nachweis in der Tumorzelle.

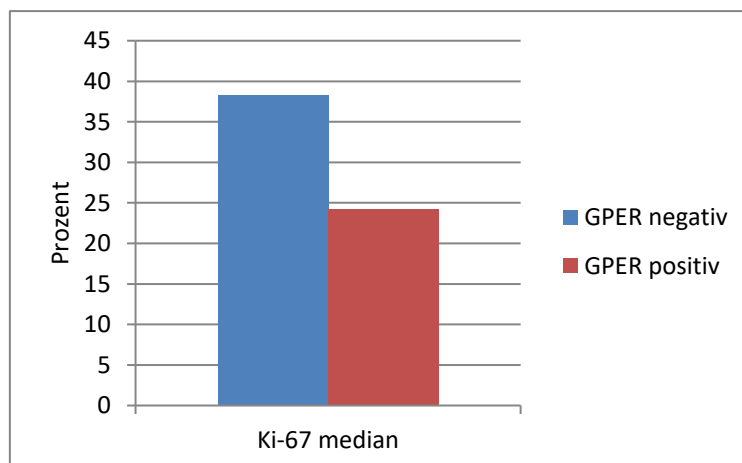


Abbildung 8: GPER-1 Expression und Ki-67

Die Auswertung der Daten unserer Patientinnen zeigte, dass die GPER-1 Expression mit einer niedrigeren Ki-67 Expression einhergeht ($p < 0.0001$).

Patientinnen mit niedriger Ki-67 Expression weisen einen geringeren Anteil teilungsaktiver Zellen auf und gehen so mit einer günstigeren Prognose einher.

3.1.8 Systemische Therapie und GPER-1 Status

Ein weiterer Schritt unserer Studie bestand daraus, herauszufinden, ob es einen Zusammenhang zwischen der GPER-1 Expression und den verschiedenen Therapieoptionen gab.

In Bezug auf die systemische Therapie zeigte sich, dass von unseren 435 Patientinnen 164 (37,7%) eine Chemotherapie erhielten, während 245 (56,3%) Patientinnen keine systemische Behandlung bekamen. Bei 26 (6%) Patienten fehlten die Daten hinsichtlich der systemischen Therapie. Dabei erhielten nur 121 (34,4%) von 352 Patientinnen der GPER-1 positiven Patientinnen aus unserem Patientengut eine Chemotherapie, wie in Abbildung 9 dargestellt. Keine systemische Therapie benötigten dahingegen 207 (58,8%) von 352 der GPER-1 positiven Patientinnen. Bei Patientinnen mit negativer GPER-1 Expression dagegen unterschied sich die Wahrscheinlichkeit nicht signifikant. 43 (51,8%) erhielten eine systemische Therapie, währenddessen 38 (45,8%) von 83 Patientinnen keine systemische Therapie empfangen.

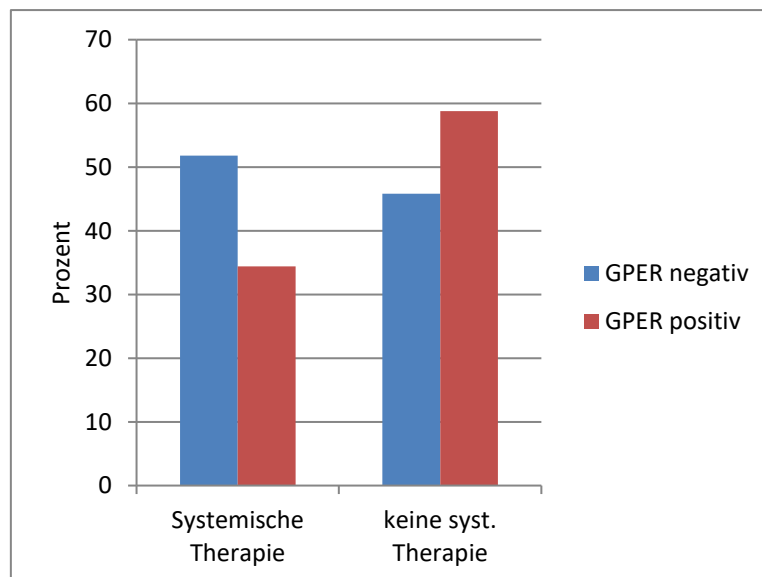


Abbildung 9: GPER-1 Expression und systemische Therapie

Darauffolgend zeigte sich bei der Auswertung der systemischen Therapie unseres Patientengutes, dass Patientinnen mit einem GPER-1 positiven Tumor deutlich

seltener eine Chemotherapie als Patientinnen die GPER-1 negativ waren, erhielten (p=0.011).

3.1.9 GPER-1 Expression und sein Zusammenhang zur Operation und Bestrahlung

Des Weiteren untersuchten wir, ob es eine Korrelation zwischen der ausgewählten Art der Operationstechnik des Mammakarzinoms zu der GPER-1 Expression gab.

Von unseren 435 Patientinnen wurden nur 5 (1,1%) Patienten nicht operiert und 374 (86%) Patientinnen erhielten eine Operation, davon 235 (54%) eine brusterhaltende Operation (BEO) und 139 (32%) eine Mastektomie. Bei 56 (12,9%) der 435 Patientinnen wurde keine Operation dokumentiert. Eine BEO erhielten 195 (55,4%) von 352 Patientinnen mit einer positiven GPER-1 Expression und 102 (29%) der 352 Patientinnen wurden einer Mastektomie unterzogen. Es wurden 40 (48,2%) von 83 der GPER-1 negativen Patientinnen brusterhaltend operiert und bei 37 (44,6%) kam es zu einer Mastektomie. Es zeigte sich, dass es keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Operationstechnik und der GPER-1 Expression gab (Abb.10; p=0.085).

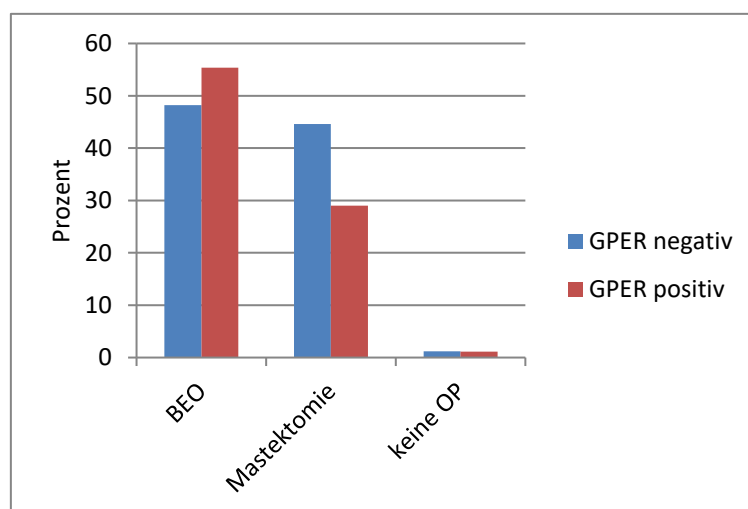


Abbildung 10: GPER-1 Expression und Operation

Bei der Auswertung der Bestrahlung bezüglich ihrer Korrelation zur GPER-1 Expression verhielt es sich ähnlich.

Eine Bestrahlung erhielten 246 (56,5%) von 435 Patientinnen, während bei 142 (32,6%) keine Strahlentherapie durchgeführt wurde. In 47 (10,8%) Fällen konnten wir

keine Auskunft bezüglich der Bestrahlung ermitteln. Bei Patienten mit positiver GPER-1 Expression wurden 203 (57,7%) der 352 Patientinnen und bei GPER-1 negativen wurden 43 (51,8%) von 83 Patientinnen bestrahlt. Keine Bestrahlung erfolgte bei 112 (31,8%) der 352 GPER-1 positiv und 30 (36,1%) von 83 der GPER-1 negativ getesteten Patienten (s. Abb. 11; $p=0.419$).

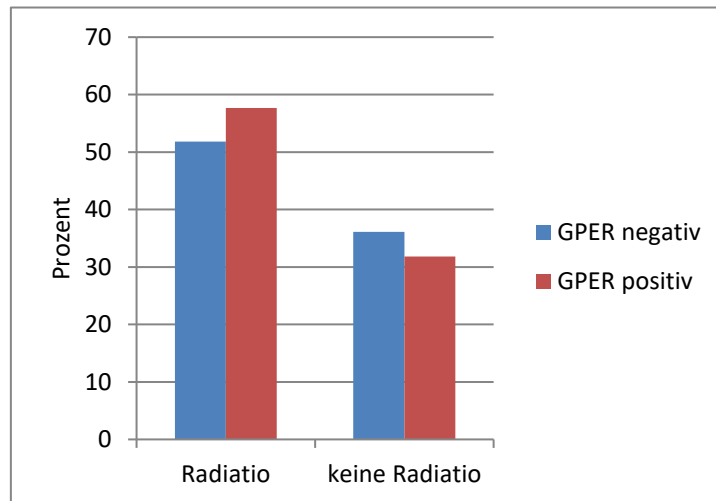


Abbildung 11: GPER-1 Expression und Bestrahlung

3.1.10 Zusammenfassung der Ergebnisse

Zusammenfassend zeigen die Untersuchungsergebnisse in unserem Patientengut für die Prognose eines Mammakarzinoms, dass eine erhöhte Expression des GPER-1 signifikant mit günstigeren Eigenschaften des Tumors verbunden ist und daher primär mit einer besseren Prognose. GPER-1 Expression findet sich bei Mammakarzinomen mit einem histologisch günstigeren Grading, dem G1 und G2 sowie Hormonrezeptor-positiven Karzinomen und niedrigerem Ki-67 Level.

Dies spiegelt sich auch in der Auswertung der Patientinnen mit einer systemischen Chemotherapie wider. Patientinnen mit einer positiven GPER-1 Expression benötigten viel seltener eine Polychemotherapie als Patientinnen, bei denen sich eine GPER-1 Expression nicht nachweisen ließ.

Die folgende Tabelle 3 fasst die Ergebnisse der Untersuchungen in unserem Patientenkollektiv zusammen.

Tabelle 3: Klinische und pathologische Charakteristika bei GPER-1 positiver bzw. negativer Expression

Charakteristika	GPER negativ		GPER positiv		p-value
	N	%	N	%	
Total	83	19.1	352	80.9	
Alter, Mittelwert (Bandbreite)	60.7 (28-91)		61.5 (31-99)		0.670
Tumorgröße, cm					0.382
≤2	39	47	182	51.7	
>2	40	48.2	149	42.3	
Fehlend	4	4.8	21	6	
Lymphknotenstatus					0.227
Negativ	55	66.3	187	53.1	
Positiv	22	26.5	108	30.7	
Fehlend	6	7.2	57	16.2	
Histo. Grading					0.0001
1	3	3.6	45	12.8	
2	33	39.6	181	51.4	
3	41	49.4	99	28.1	
Fehlend	6	7.2	27	7.7	
ER					0.0001
Negativ	40	48.2	43	12.2	
Positiv	41	49.4	294	83.5	
Fehlend	2	2.4	15	4.3	
PR					0.0001
Negativ	45	54.2	68	19.3	
Positiv	36	43.4	269	76.4	
Fehlend	2	2.4	15	4.3	
HER2					0.623
Negativ	69	83.1	271	77.0	
Positiv	12	14.5	59	16.8	
Fehlend	2	2.4	22	6.2	
Ki67, Mittelwert (Bandbreite)	38.3 (5-95)		24.2 (2-82)		0.0001
Operative Therapie					0.085
Keine	1	1.2	4	1.1	
Brusterhaltende Operation	40	48.2	195	55.4	
Mastektomie	37	44.6	102	29.0	
Fehlend	5	6	51	14.5	
Systemische Therapie					0.011
Keine	38	45.8	207	58.8	
Erhalten	43	51.8	121	34.4	
Fehlend	2	2.4	24	6.8	
Bestrahlung					0.419
Keine	30	36.1	112	31.8	
Erhalten	43	51.8	203	57.7	
Fehlend	10	12.1	37	10.5	

3.2 Einfluss der GPER-1 Expression auf die endokrine Therapie

3.2.1 Analyse unseres Patientengutes und ihr Outcome

Um den Einfluss der medikamentösen Therapie auf GPER-1 positive Brustkrebspatienten zu ermitteln, mussten die Patientendaten in Hinsicht auf ihre GPER-1 Expression und die angewandte Therapie untersucht werden.

Von den in der Studie aufgenommenen 442 Patienten wurden sieben Patienten primär ausgeschlossen, da bei ihnen der Nachweis einer GPER-1 Expression technisch nicht möglich war. GPER-1 positiv gelten Patienten bei einem IHS >3, wie in Tabelle 2 dargestellt. GPER-1 konnte in 352 von 435 Fällen nachgewiesen werden, was einem Anteil von 80,5% entspricht.

Für die Evaluation des Überlebens unter der Fragestellung des Einflusses des GPER-1 Rezeptors auf die Therapie mit antihormonellen Substanzen (Tamoxifen vs. Aromataseinhibitoren) konnten von den 435 Fällen wiederum 184 Patienten nicht in die Studie mit einbezogen werden, da 83 Patienten GPER-1 negativ waren, 35 Patienten keine endokrine Therapie erhielten bzw. bei 57 Patienten die endokrine Therapie nicht dokumentiert wurde und neun Patienten bilaterale Mammakarzinome aufwiesen. So blieben 251 Patienten mit GPER-1 positivem Nachweis und gleichzeitigem Erhalt einer endokrinen Therapie für die Studiauswertung. Während der Follow-Up Time kam es bei 44 (17,5%) der 251 Patienten zu einer Rezidivkrankung und/ oder krebsspezifischem Tod.

Abbildung 12 zeigt, dass 16 (6,4%) Patienten Lokalrezidive entwickelten, ein loco-regionales Wiederauftreten des Tumors fand sich bei drei (1,2%) Patientinnen. Fernmetastasen wurden in zwölf Fällen (4,8%) registriert. Davon wurden am häufigsten Fernmetastasen in den Knochen (n=10), gefolgt von der Leber (n=4), Lunge (n=3) und anderen Organen (n=2) sowie ein Lymphknotenbefall abseits der Lokalisationen des Primärtumors detektiert. Bei einigen Patienten kam es zur Metastasenbildung in mehreren Organen. Elf (4,4%) Patientinnen verstarben. Bei zwei Patienten kam es sowohl zur lokalen als auch loco-regionalen Rezidivkrankung.

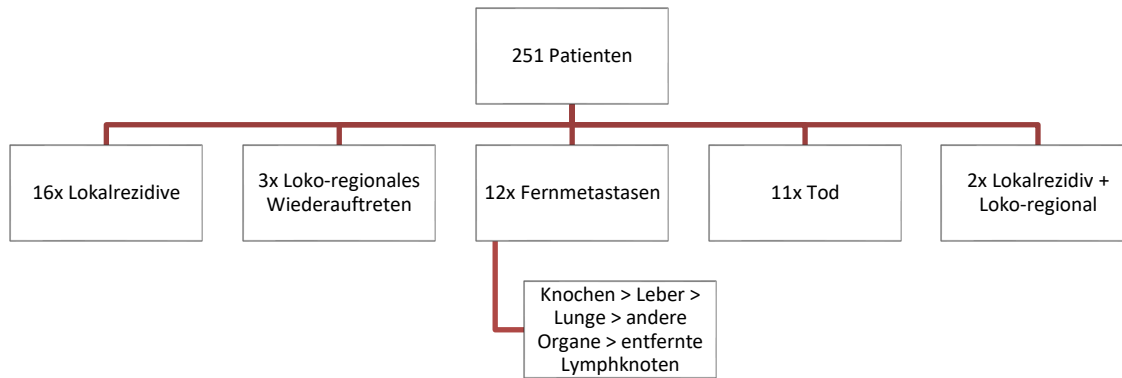


Abbildung 12: Rezidivkrankungen und Todesfälle unseres Patientengutes während der Nachsorge

3.2.2 Einteilung der Patientinnen entsprechend dem Nachweis von GPER-1 im Tumor und der endokrinen Therapieform

Für die Analyse unserer Fragestellung kamen von unseren 442 Patientinnen insgesamt 251 Patientinnen mit einem GPER-1 positiven Tumor und einer antihormonellen Therapie in die Auswertung. Diese Patienten wurden abhängig von ihrer endokrinen Therapie in zwei Gruppen eingeteilt. Die erste Gruppe umfasste 137 (54,6%) Patienten, die mit Tamoxifen behandelt wurden. Die verbliebenen 114 (45,4%) Studienteilnehmer erhielten Aromataseinhibitoren.

Um eine Stichprobenverzerrung zu vermeiden, wurde ein Matching durchgeführt, welches auf vier prognostischen Kriterien basierte: dem Tumorstadium ($T \leq 2\text{cm}$ oder $> 2\text{cm}$), der Tumorhistologie, dem histologischen Grading sowie der Therapie. 110 Fälle konnten gematched werden. In Abbildung 13 wird der Zusammenhang veranschaulicht.

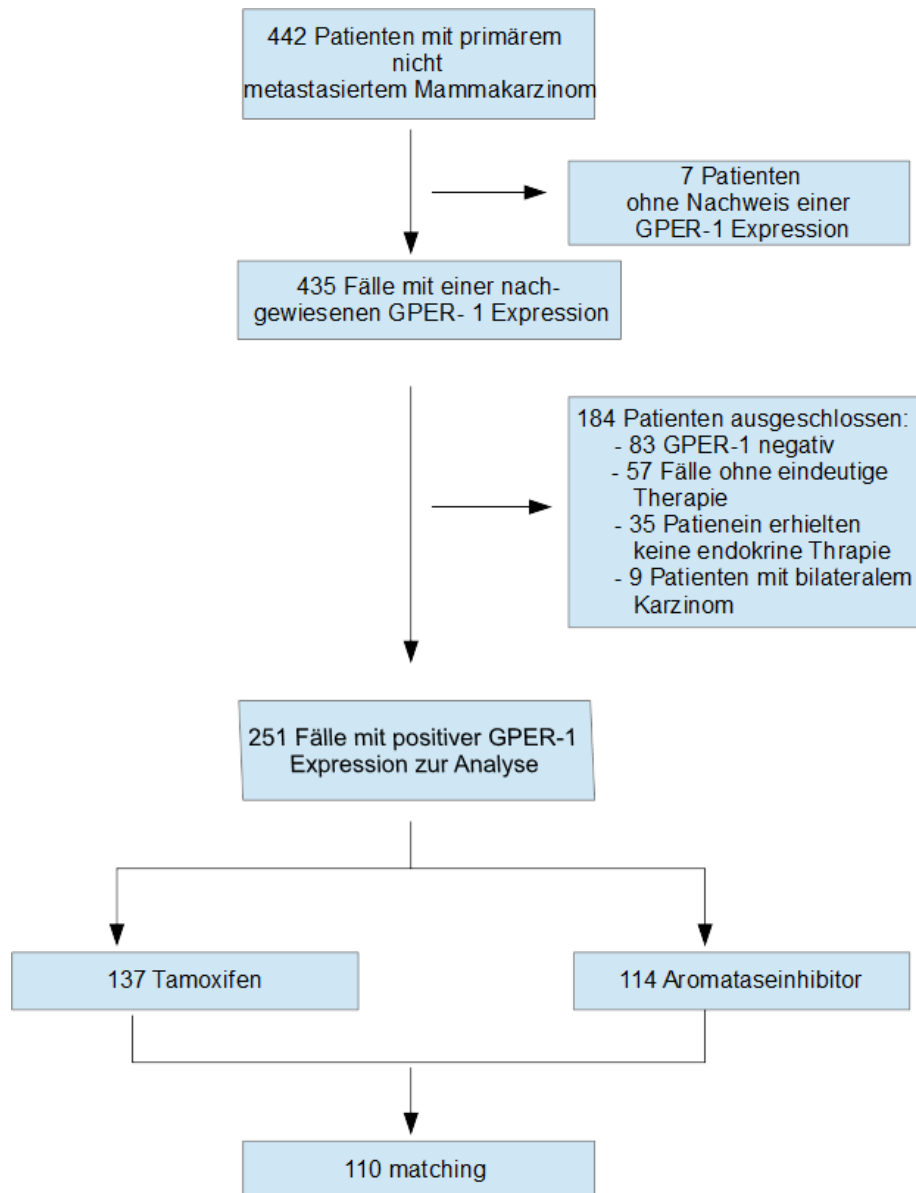


Abbildung 13: Einteilung unseres Patientengutes

3.2.3 GPER-1 Expression und ihr Einfluss auf die Therapie unter Tamoxifen und Aromataseinhibitoren

Von unseren 251 gesamten GPER-1 positiven Patientinnen untersuchten wir im nächsten Schritt, inwiefern die endokrine Behandlung eine Rolle für das DFS der Patientinnen spielte. Dabei wurde zum einen die Patientengruppe beobachtet, die Tamoxifen erhielt, und zum anderen die Gruppe mit der Aromataseinhibitoren-Therapie.

In der gesamten GPER-1 positiven Kohorte von 251 Patienten konnte festgestellt werden, dass das Gesamtüberleben bei Patienten unter Tamoxifenbehandlung nicht signifikant unterschiedlich zu Patienten unter Aromataseinhibitoren war.

Es zeigte sich, wie in Abbildung 14 dargestellt, dass das DFS bei den GPER-1 positiven Patienten, die eine Behandlung mit Tamoxifen erhielten, 79,6% ergab, während bei Patienten unter einer Aromataseinhibitoren-Therapie das DFS 89,5% betrug. ($p=0.09$)

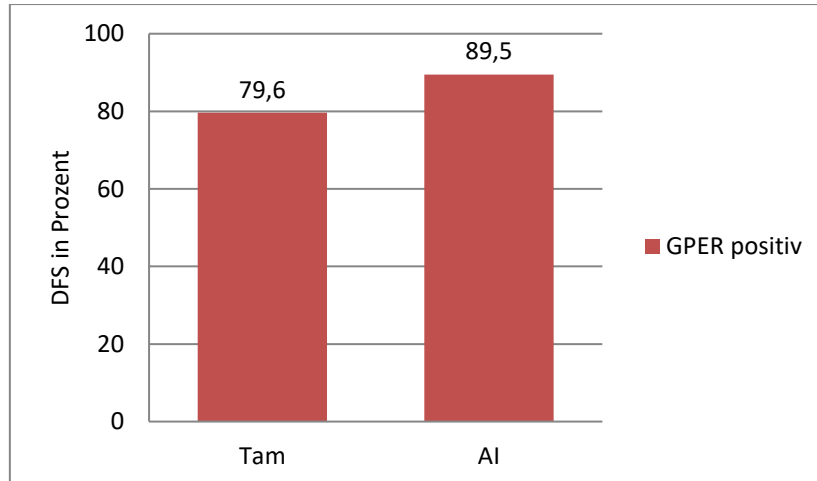


Abbildung 14: GPER-1 positive Expression und endokrine Therapie

Anhand der Abbildung ist jedoch zu sehen, dass die Therapie mit Tamoxifen bei Patienten mit nachweislicher positiver GPER-1 Expression mit einem leicht verminderten, jedoch nicht signifikant aussagekräftigen Outcome einhergeht.

3.2.4 GPER-1 Expression und ihr Einfluss auf die endokrine Therapie nach dem Matching

Um eine Stichprobenverzerrung zwischen den Patientengruppen mit unterschiedlicher Therapie zu vermeiden, wurde ein Matching für die essenziellsten Prognosefaktoren verwendet. Durch das Matching wird eine Strukturgleichheit der Fälle und der Kontrollen erreicht.

Abbildung 15 zeigt, dass die Gruppe der GPER-1-positiven Patientinnen, die mit Tamoxifen behandelt wurden, ein DFS von 69,1% aufwies, welches signifikant geringer ausfiel als bei den Patientinnen, die eine Therapie mit Aromataseinhibitoren erhielten. In dieser Gruppe betrug das DFS 92,7% ($p=0.005$).

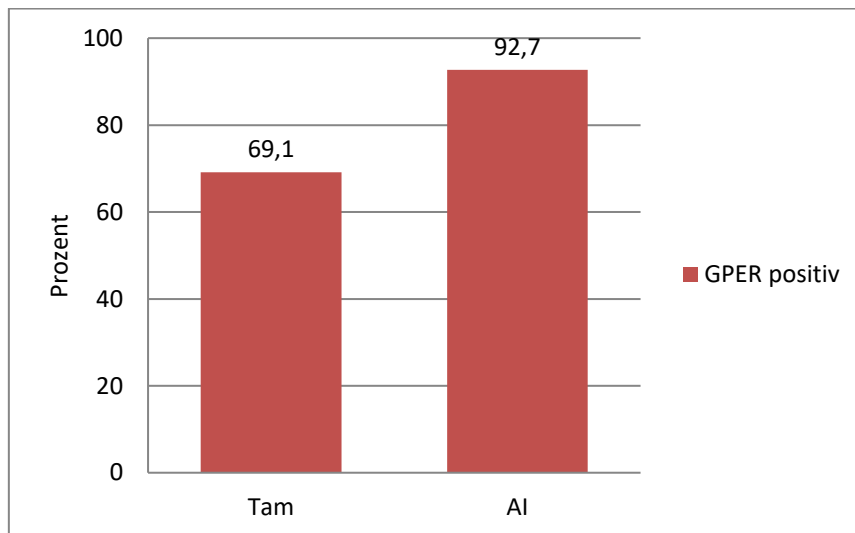


Abbildung 15: GPER-1 positive Expression und endokrine Therapie nach Matching Analyse

Anhand der Kaplan- Meier- Kurve wird in Abbildung 16 veranschaulicht, wie die verschiedenen Therapieoptionen das Patientenoutcome im Laufe der Jahre beeinflussten. Es war vor allem nach der Matching Analyse eine immer größer werdende Diskrepanz zwischen der Therapie unter Aromataseinhibitoren gegenüber der Tamoxifentherapie zu beobachten.

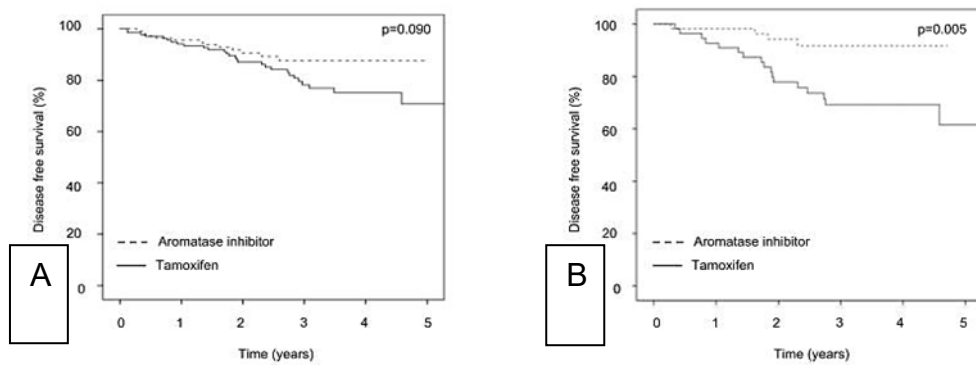


Abbildung 16: Kaplan- Meier- Kurve über den Einfluss der endokrinen Therapie bei GPER-1 positiven Patientinnen. A: Krankheitsfreies Überleben (DFS) im Gesamtkollektiv. B: DFS nach Matching Analyse

Diese Studie zeigt, dass Patienten, die nachweislich eine GPER-1 positive Expression aufwiesen, unter der Therapie mit Tamoxifen ein erhöhtes Risiko für wiederauftretende Rezidive erlitten. Dabei konnten wir in unserer Studie nachweisen, dass Patientinnen mit GPER-1 Nachweis histologisch Tumore mit günstigerer Prognose bezüglich des Gradings, Hormonrezeptorstatus und Ki-67 hatten, sodass ein Ansprechen auf eine endokrine Therapie mit einem erhöhten Erfolg assoziiert sein sollte. Diese Patientinnen zeigten eine höhere Rezidivrate unter Tamoxifen und ein signifikant besseres Ansprechen auf Aromataseinhibitoren.

Diese Entdeckung zeigt uns, dass bei Patienten mit nachgewiesener GPER-1 und Hormonrezeptor Positivität die Therapie mit Tamoxifen zwar anschlägt, auf lange Sicht kommt es jedoch trotz dieser Therapie häufiger zu einer Metastasenbildung.

4. Diskussion

4.1 *GEPR-1 Expression und sein Einfluss auf verschiedene Tumorcharakteristika*

Der GPER-1 gehört zu den Steroidrezeptoren und wird in vielen Geweben exprimiert, wie zum Beispiel in der Mamma, Lunge oder Plazenta (33). In mehr als 50% der Patienten mit Brustkrebs konnte ein hohes Niveau von GPER-1 Expression nachgewiesen werden (20,51,52). In vielen aktuellen Studien wird die Funktion sowie Bedeutung des Rezeptors diskutiert. Jedoch gibt es zurzeit noch kontroverse Untersuchungsergebnisse über den Einfluss von GPER-1 auf das Mammakarzinom.

Wir haben in unserer prospektiven Studie zum einen den Zusammenhang der klinisch pathologischen Tumorcharakteristika und die GPER-1 Expression im invasiven nicht metastasierten Mammakarzinom, sowie den Zusammenhang zwischen GPER-1 Expression und den Einfluss auf die endokrine Therapie untersucht. Es zeigte sich, dass die GPER-1 Expression einerseits mit einer besseren Tumorprognose, andererseits aber einem erniedrigten DFS der mit Tamoxifen gegenüber den mit Aromataseinhibitor behandelten Patientinnen einhergeht.

In dieser Arbeit konnten wir zeigen, dass GPER-1 mit verschiedenen klinischen und pathologischen Charakteristika korreliert. In Bezug auf das histologische Grading zeigten vor allem die gut und mäßig differenzierten (G1 und G2) Karzinome eine GPER-1 Positivität. Diese Patientinnen haben somit eine bessere Prognose hinsichtlich des Gesamtüberlebens. Auch die Studie von Ignatov et al. 2013 kam zu den gleichen Ergebnissen. Ihre Untersuchung zeigte eine signifikante Korrelation zwischen dem histologischen Grading und der GPER-1 Expression (50).

Weiterhin fanden wir einen Zusammenhang zwischen ER und PR in Bezug auf GPER-1 Expression heraus. ER- und PR- negative Mammakarzinome weisen eine geringere Expression von GPER-1 auf. Hormonrezeptorpositive Tumore hingegen gehen mit einer signifikant erhöhten GPER-1 Positivität einher. Der Nachweis des Hormonrezeptorstatus ist einerseits mit einer besseren Prognose des Tumors verbunden und andererseits bedeutend für die Entscheidung einer endokrinen Therapie mit Tamoxifen oder Aromataseinhibitoren.

In den Studien von Ignatov et al. 2011 und 2013 wurde ebenfalls die GPER-1 Expression beim Mammakarzinom untersucht sowie der Zusammenhang zwischen GPER-1 und verschiedenen Tumorcharakteristika ausgewertet. Dabei wurde zum einen bestätigt, dass die GPER-1 Expression bei Tumoren mit niedrig differenzierten histologischen Grading sowie bei positiven ER und PR gesteigert ist (50,51). In unserer untersuchten Kohorte zeigte sich bei 87,2% der ER positiven Tumore und bei 79,8% der PR positiven Tumore eine positive GPER-1 Expression.

Filardo et al. beschrieb schon 2006 den Aufbau des GPER-1 und sein Zusammenspiel mit den klinisch pathologischen Charakteristika. Sie bewiesen in ihrer Studie, dass der Nachweis des positiven ER und GPER-1 Expression signifikant korreliert. Bei dem PR ist die GPER-1 Expression bei Filardo nicht signifikant (20). In einer anderen Studie wurden 1250 Brustkrebspatienten untersucht und es konnte auch hier festgestellt werden, dass die GPER-1 Expression bei ER positiven Patienten signifikant verstärkt auftrat (53).

Jedoch gibt es auch Studien, die diese Aussagen nicht bestätigen. Luo et al. veröffentlichten im Jahr 2011 ihre Untersuchungsergebnisse in Bezug zur Verknüpfung zwischen der GPER-1 Expression und klinisch pathologischen Faktoren. Die Ergebnisse ihrer Studie konnte einen Zusammenhang zwischen Hormonrezeptornachweis und GPER-1 nicht bestätigen (54).

Diese unterschiedlichen Ergebnisse müssen in Hinsicht auf verschiedenen Fehlerquellen untersucht werden. Ein Aspekt dieser Diskrepanz könnte sein, dass die verschiedenen Studien unterschiedliche Scores zur Einteilung der GPER-1 Expression verwenden. Als Beispiel definierten Luo et al. den Score ihrer zytoplasmatisch vorkommende GPER-1 Expression mit 0-8, wobei eine GPER-1 Positivität ab 5 beschrieben wird (54). Wir jedoch definieren den Score von 0-9 und verstehen eine GPER-1 Positivität ab 3. Zum anderen kann GPER-1 in verschiedenen Lokalisationen auftreten, zum einem im Zellkern, zum anderen in dem endoplasmatischen Retikulum im Zytoplasma. Diese Variationen der Lokalisation des GPER-1 scheint eine große Rolle in seiner Funktion und im Zusammenhang der histopathologischen Eigenschaften des Tumors zu spielen. Im Zellkern lokalisiertes GPER-1 korreliert mit einem schlecht differenzierten hormonrezeptornegativen Karzinom (Triple negatives Mammakarzinom), dagegen zytoplasmatisch nachgewiesenes GPER-1, geht mit einem niedrigeren Tumorstadium und

hormonpositiven Mammakarzinomen einher (30). Unsere Studie bezog sich auf GPER-1, welches im Zytoplasma nachgewiesen wurde.

Ein weiterer Grund für die Unterschiede der verschiedenen Studienergebnisse könnte die unterschiedliche Anzahl an Patientendaten darstellen. In unsere Studie konnten wir in einem kurzen Beobachtungszeitraum die Daten von 251 Patienten werten. Samartzis et al. konnten als Beispiel auf eine Patientengröße von 981 Patienten zurückgreifen (55). Von daher kann in den verschiedenen Studien eine unterschiedliche Stichprobengröße von großer Bedeutung für die Auswertung sein.

Unserer Analyse zufolge korreliert die GPER-1 Expression nicht signifikant mit dem HER2-Status. Broselid et al. konnten 2013 auch keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem HER2-Status und der GPER-1 Expression feststellen (56).

Jedoch haben vorherige Studien eine signifikante Korrelation zwischen der GPER-1 Expression und HER2-Status erforscht. Zum einen beschrieb Ignatov et al. 2011, dass 69% der HER2 positiven Mammakarzinome eine GPER-1 Expression zeigten, während nur 31% kein GPER-1 exprimierten (51). Auch die Studie von Sjöstrom et al. und Samartzis samt Kollegen belegen die Korrelation. Sie stellten eine signifikante Korrelation zwischen HER2 und in der Plasmamembran lokalisierte GPER-1 Expression dar (26,55). Gründe für die unterschiedlichen Ergebnisse könnte die Art der Studie sein. In unserer Studie wurde die GPER-1 Expression prospektiv beurteilt, was mit einer höheren Datenqualität einhergeht. Die anderen genannten Studien sind retrospektiv, welche mit vermehrten Fehlern der Dokumentation, zum Beispiel in der Krankenakte oder den Fragebögen einhergehen kann. Ein anderer Grund für diese Diskrepanz könnte wiederum auch wieder die unterschiedliche Lokalisation des GPER-1 sein. In einigen Studien ist es wie in unserer Studie im Zytoplasma angesiedelt, während es in anderen Studienkonstellationen im Zellkern lokalisiert ist. Ignatov et al. sowie Sjöstrom mit Kollegen erforschten die im Zytoplasma beziehungsweise Zellmembran nachweisbare GPER-1 Expression und ihren Einfluss auf das Mammakarzinom (26,51).

Samartzis mit seinem Team untersuchte den Einfluss der Lokalisationen von GPER-1. Sie fanden heraus, dass die zytoplasmatische GPER-1 Expression signifikant mit nicht-duktalem histologischen Subtypen, niedrigem Tumorstadium sowie günstiger

histologischer Differenzierung assoziiert ist. Auch ist GPER-1 Expression im Zytoplasma bei Luminal A und B Typen erhöht. Die Expression von GPER-1 im Zellkern geht mit einer ungünstigeren Prognose einher. Es ist signifikant mit wenig differenzierten Karzinomen und Triple negativen Subtypen assoziiert. So wird beschrieben, dass univariate Studien ergaben, dass GPER-1 Expression im Zytoplasma mit einem besseren Gesamtüberleben korreliert (55).

Eine weitere Ursache der verschiedenen Ergebnisse kann die Verwendung unterschiedlicher Techniken in Bezug auf den Nachweis der GPER-1 Expression darstellen. Zum einen wird in einigen Studien die Immunhistochemie eingesetzt, um GPER-1 ausschließlich in epithelialen Tumorzellen zu bestimmen, wiederum andere Studien untersuchten die Expression aus der Gesamt-RNA ohne epitheliale Tumorzellen zu isolieren (57). In unserer Studie verwendeten wir die Immunhistochemie für den Nachweis der GPER-1 Expression.

Unsere Arbeit zeigt eine signifikante Korrelation zwischen der GPER-1 Expression und einem niedrigen Ki-67 Median. Durch diesen Zusammenhang wird unsere These gestützt, dass GPER-1- Expression bei Tumoren mit einer günstigen Tumorbilogie auftritt.

In Bezug zur Tumorgöße und den Lymphknotenstatus ergab sich in unserer Auswertung, dass es keine signifikante Korrelation zur GPER-1 Expression gab. In unserer Studie konnte beobachtet werden, dass GPER-1 positive Mammakarzinome leicht stärker bei kleineren Tumoren sowie nodal-negativen Tumoren vertreten war, was auch zu der Aussage, dass GPER-1 positive Karzinome mit einer günstigen Tumorbilogie einhergehen, übereinstimmt. Da jedoch keine Signifikanz nachweisbar war, lässt sich dies nur als Beobachtung werten.

In den Studien von Ignatov samt Kollegen von 2011 und 2013 wurde eine signifikante Korrelation zwischen der GPER-1 Expression und nodal-negativen Tumoren dargelegt. Nodal-positive Tumore dagegen waren sehr ähnlich bei GPER-1 positiven sowie negativen Karzinomen vertreten (50,51). Dies deckt sich mit der Arbeit von Luo et al.. Sie veröffentlichten 2011 ihre Untersuchung und präsentierten, dass GPER-1 positive Expression beim Mammakarzinom mit keinen oder niedrigen positiven Lymphknotenstatus korrelierte (54). Filardo et al. stellten fest, dass Patientinnen ohne GPER-1 Expression vor allem mit kleineren Tumoren signifikant

assoziiert waren. GPER-1 Expression war hingegen bei kleinen und großen Tumoren ähnlich stark vertreten (20). Ein Grund für die unterschiedlichen Ergebnisse könnte sein, dass wir Patientengewebe von nicht-metastasierten Tumoren untersucht haben. Filardo hingegen untersuchte Patientengewebsproben von Frauen mit nicht- aber auch metastasiertem Mammakarzinom.

In unserer Arbeit zeigte sich, dass die GPER-1 Expression im positiven Sinn mit der Notwendigkeit einer systemischen Chemotherapie korreliert. Das bedeutet, dass Patienten mit einem GPER-1 positiven Mammakarzinom seltener eine systemische Therapie erhielten als GPER-1 negative Patientinnen. Das wiederum bestätigt sich in unseren Untersuchungsergebnissen, dass GPER-1 Tumore mit Hormonrezeptor Positivität und niedrigem Grading und damit einer günstigen Tumorbiologie einhergehen. Damit erhalten diese Patientinnen seltener eine Chemotherapie und profitieren eher von einer endokrinen Therapie.

Für die Therapiekonzepte Operation und/oder Bestrahlung konnte keine Beziehung zu der GPER-1 Expression festgestellt werden.

Aus den Daten unserer Untersuchungen ergab sich, dass die GPER-1 Expression mit einer günstigen Tumorbiologie einhergeht. Daraus ergibt sich, dass die Prognose bezüglich des Tumors günstiger und ein verbessertes Gesamtüberleben zu verzeichnen ist.

Dazu konnten auch andere zitierte Studien aufzeigen, dass die GPER-1 Expression im Zytoplasma mit einem verbesserten Patienten Gesamtüberleben bei Mammakarzinomen, sowie anderen Karzinomen assoziiert ist (26,50,53,56,58). Wir konnten daraus schlussfolgern, dass GPER-1 einen potenziellen Tumorsuppressor darstellt und vorherige Studien bestätigten dies (58,59,60). Vergleichbare Daten wurden in weiteren Studien mit Krebszellen unterschiedlicher Herkunft beobachtet (56,61,62,63). Der Fakt, dass die GPER-1 Expression mit günstigeren pathologischen Charakteristika und verbessertem Outcome in der gegenwärtigen Kohorte assoziiert ist, unterstützt indirekt das Tumorsuppressor-Potential von GPER-1.

Ignatov et al. untersuchten 2013 und 2014 den Einfluss von GPER-1 und die Eigenschaft als Tumorsuppressoren bzw. Initiator anderer Tumorsuppressorgene (50,60). Ignatov et al. beschrieben schon 2013, dass GPER-1

Mammakarzinomzellen im Wachstum hemmen kann, indem es verschiedenen Tumorsuppressorgene induzieren kann, wie z.B. p53 oder p21 (58). Auch Azari et al. beschrieben in ihrer Studie, dass GPER-1 durch die Erhöhung von Ca²⁺ zur Hemmung der Zellproliferation und Induktion der Apoptose in östrogenpositiven Zellen führen kann. Sie unterstützen die These, dass GPER-1 das Wachstum von Zellen in östrogenpositiven Mammakarzinomzellen hemmt (53). Broselid et al. bestätigten in ihrer Forschung, dass GPER-1 die proapoptotische Signalübertragung in ER-, sowie PR- positiven Zellen fördern, was wiederum erklären würde, warum GPER-1 bei dem ER-positiven Brustkrebs zu einem erhöhten Gesamtüberleben führt (56). Zusammenfassend könnte man den Nachweis von GPER-1 in ER- positivem Brustkrebs als günstigen prognostischen Marker werten und nutzen.

4.2 GPER-1- Expression im Mammakarzinom und seine Bedeutung für die Tamoxifentherapie

Ein weiterer Untersuchungsschwerpunkt war der Einfluss der GPER-1 Expression bei Tamoxifen behandelten Patienten im Hinblick auf das mediane krankheitsfreie Überleben.

In der Gesamtkohorte von GPER-1 positiven Patienten ergab sich, dass das DFS unter Tamoxifentherapie ähnlich den Patienten unter Aromataseinhibitorentherapie war. Das Gesamtüberleben der mit Tamoxifen behandelten Patienten betrug 79,6 % und unter Aromataseinhibitoren 89,5%, jedoch mit p = 0,09 und ist somit nicht signifikant aussagekräftig (Abb.16; Kaplan A). Um in unserer Forschung eine Stichprobenverzerrung zu vermeiden, wurde ein Matching für die wichtigsten prognostischen Faktoren genutzt. So ergab sich, dass das DFS bei Patienten unter Aromataseinhibitoren bei 92,7 % lag. Die DFS unter Tamoxifen-Therapie betrug jedoch nur 69,1 %. Infolgedessen kann signifikant bestätigt werden, dass Patienten unter Tamoxifen-Therapie eine geringere DFS aufwiesen (Abb.16; Kaplan B). Einerseits haben Patienten mit einem GPER-1 positiven Mammakarzinom eine gute Prognose bezüglich des Gesamtüberlebens, da GPER-1 Expression mit einer günstigen Tumorbiologie einhergeht. Jedoch zeigt unsere Arbeit, dass Tamoxifen durch GPER-1 in seiner Funktion als Wachstumshemmer des Hormonrezeptor-positiven Mammakarzinoms abgeschwächt wird. Dadurch treten bei Patienten unter Tamoxifen vermehrt Metastasen und Rezidive auf. Eine Erklärung könnte sein, dass

GPER-1 die Resistenz gegenüber Tamoxifen fördert und so die Wirkung herabsetzt beziehungsweise verändert. Somit sind Tumore mit einer erhöhten GPER-1 Expression bezüglich ihrer Therapieoptionen zu überdenken. In unserer Arbeit wird aufgezeigt, dass GPER-1 positive Patienten sehr gut auf Aromataseinhibitoren ansprechen und damit eine günstige Prognose bezüglich des DFS aufweisen.

Dieses Ergebnis kann durch vorherige retrospektive Mammakarzinom Studien bestätigt werden (26,51). Tamoxifen ist ein Agonist des GPER-1 und kann so die GPER-1 Expression aktivieren (64,65). Eine langfristige Gabe endokriner Therapie mit Tamoxifen führt zu einer erhöhten Empfindlichkeit der Zellen gegenüber E2 (17 β -Estradiol) und somit zu einer Erhöhung der durch E2 stimulierten Upregulation von GPER-1 und damit zu einer erleichterten Verlagerung von GPER-1 aus dem endoplasmatischen Retikulum zur Zelloberfläche, sodass der Crosstalk zwischen Wachstumsfaktorrezeptoren verstärkt wird und es daraus folgend zu einer erhöhten Zellproliferation kommt. Am bedeutendsten ist der Crosstalk zwischen der G β y Untereinheit des GPER-1 mit dem EGFR-Signalweg, der dadurch verstärkt wird und somit zur Phosphorylierung der MAP-Kinasen führt. Diese führen zu weiteren Stimulationen von zum Beispiel ER und zu einer Gentranskription mit folgender erhöhter Zellproliferation. Das phospholysierte ER kann dann wiederum GPER-1 hoch regulieren, sodass ein Teufelskreislauf entsteht. Durch die erhöhte Zellproliferation kann es zum Wachstum des Tumors sowie erhöhter Metastasenbildung kommen (64,66).

2011 veröffentlichten Prossnitz und Barton ebenfalls eine Studie, in der sie den Einfluss der GPER-1 Expression auf die Therapie mit Tamoxifen untersuchten. Sie stellten fest, dass GPER-1 positive Patienten, die nur mit Tamoxifen behandelt wurden, ein vermindertes Gesamtüberleben aufwiesen (67).

Sjöstrom et al. konnten diese These weiterhin bestätigen. Sie fanden heraus, dass ein Mangel an GPER-1 Expression in der Plasmamembran bei Patienten mit ER- und PR- positiven Mammakarzinom unter Tamoxifen-Therapie mit einem sehr geringen Risiko für Fernmetastasen in der Langzeitprognose einhergeht (26).

Molina et al. beschrieben, dass Tamoxifen GPER-1 aktiviert und dadurch die Transaktivierung eines Tyrosinkinase-Rezeptors induziert wird, wodurch die

Tumoröstrogenabhängigkeit abnehmen kann und der Tumor resistenter gegen Therapien bezogen auf den Entzug von Östrogenen wird (68).

2020 erforschten Molina et al. des Weiteren, dass die GPER- Expression bei Brustkrebspatienten, die Tamoxifen erhielten, weiter ansteigt und zu einem geringeren DFS führt (69).

Ignatov et al. konnten in ihrer Studie 2020 signifikant aufzeigen, dass bei Patienten unter Tamoxifentherapie mit positiver GPER-1 Expression nach vier bis sechs Monaten wieder eine leichte Tumorvergrößerung auftrat (70).

Auf der anderen Seite fanden Broselid und seine Kollegen keine Korrelation zwischen Tamoxifen-Therapie und GPER-1 Expression. Sie bestätigten einerseits, dass GPER-1 Expression mit ER- und PR- positiven Mammakarzinomen korreliert und weiterhin mit einem besseren Gesamtüberleben einhergeht. Jedoch konnten Broselid et al. in ihren Forschungen keinen Unterschied zwischen dem verbesserten Gesamtüberleben bei Patienten mit oder ohne Tamoxifentherapie entdecken. In beiden Gruppen, Patienten unter Tamoxifen-Therapie und der Gruppe der Patienten ohne Tamoxifen-Therapie, stellten sie fest, dass eine GPER-1 Expression signifikant mit einem verbesserten Gesamtüberleben assoziiert ist (56).

Die bislang vorliegenden Studienergebnisse hierzu sind kontrovers. Bislang findet man keine eindeutige Erklärung, warum verschiedene Studien zu unterschiedlichen Ergebnissen führen. Jedoch gibt es verschiedene Ansätze, um die Diskrepanz zu beschreiben. Zum einen kann die retrospektive Studie von Broselid mit einer Einbuße bei der Auswertung der gesammelten Daten einhergehen. Andererseits untersuchten Broselid et al. Patienten, die seit zwei Jahren Tamoxifen kontinuierlich nahmen. Jedoch hat man durch in- vitro Daten festgestellt, dass die Tamoxifen-Resistenz nur bei einer Langzeitgabe von Tamoxifen entstehen kann, sodass zwei Jahre als unzureichend anzunehmen sind (64,66).

Andererseits muss auch berücksichtigt werden, dass wir in unserer Studie nicht zwischen Prä- und Postmenopausal unterschieden haben, Broeslid jedoch teilte seine Untersuchung in zwei verschiedene Gruppen, prä- und postmenopausal, was wiederum einen Einfluss auf die Ergebnisse aufzeigen könnte.

Des Weiteren scheinen Unterschiede in der Ethnie, des Lebensstils, sowie dem Zeitpunkt der Entdeckung des Mammakarzinoms einen möglichen Einfluss auf die

Ergebnisse der verschiedenen Studien zu haben. So muss die Individualität der einzelnen Patienten und ihres Mammakarzinoms beachtet werden.

Wie auch oben beschrieben, muss die Lokalisation von GPER-1 bedacht werden. Die Lokalisation von GPER-1 hat eine große Bedeutung für die Tumorart, das Patientenoutcome, die Therapieoptionen und deren Folgen (55).

Weiterhin wird unsere Studie durch die fehlende Randomisierung unserer Patienten mit Tamoxifen- oder Aromataseinhibitoren-Therapie beschränkt. Das bedeutet, dass die zufallsbedingte Verteilung der Studienpatienten auf die zwei Gruppen, um unterschiedliche Einfluss- bzw. Störgrößen auf das Ergebnis auszuschließen, nicht gegeben ist, da wir eine Studie aus retrospektiven und prospektiven Elementen aufweisen. Jedoch haben wir durch die Matching Analyse die Stichprobenverzerrung verringert.

Unsere Studie hat einen prospektiven Charakter bezüglich der Analyse der Expression von GPER-1. Wir haben die klinischen Daten über die hormonelle Behandlung und das Überleben prospektiv gesammelt, jedoch retrospektiv ausgewertet, sodass unsere Arbeit limitiert war. Eine Stärke ist die Validierung unseres GPER-1 Scores, welcher in einer retrospektiven Studie ermittelt wurde (51).

Vorherige Studien zeigten auf, dass die systematische Analyse des Methylierungsstatus des Promotors in Zellkultur und primärem Brustgewebe von Brustkrebspatientinnen ergaben, dass die GPER-1 Expression durch epigenetische Mechanismen durch Methylierung und Demethylierung des Promotors stark reguliert wird (60). Daraus folgend könnte die Promotor Methylierung von GPER-1 als prognostischer Faktor gewertet werden (71). Erst kürzlich beschrieben Lui und seine Kollegen, dass die epigenetische Herunterregulierung von GPER-1 im Darmkrebs als Tumorsuppressor wirkt (62).

Die Genexpression wird laut neuester Studien nicht nur von genetischen, sondern auch durch epigenetische Mechanismen gelenkt. Kommt es bei der epigenetischen Regulierung zu Fehlsteuerungen, kann es zur Ausbildung von verschiedenen Krankheiten, unter anderem Krebs, kommen. So kann es zum Beispiel durch DNA-Methylierung oder Histonmodifikationen zur epigenetischen Repression von Tumorsuppressorgen kommen.

Durch das kovalente Anlagern einer Methylgruppe an das C5- Atom des Cytosinrings, die innerhalb der CpG- Stellen liegen, welches wiederum zur Bildung des 5- Methylcytosin führt, entsteht die DNA- Methylierung. Daraus folgend wird entweder die Transkription durch Verdrängung spezieller Transkriptionsfaktoren manipuliert oder methylbindende Domänen gebunden, die zu einer Repression der Gene führt. Durch die Hypermethylierung von DNA im Promotorbereich bestimmter Tumorsuppressorgene kann es zur Repression ihrer Funktion kommen. In gesunden Zellen ist der Promotorbereich nicht methyliert, doch in verschiedenen Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass bei verschiedenen Tumorzellen eine dichte Hypermethylierung in diesem Bereich stattgefunden hat (72).

Weissenborn et al. untersuchten 2017 den Einfluss der Methylierung des GPER-1 während der Brustkarzinogese. Sie fanden heraus, dass die Promotormethylierung einen wichtigen epigenetischen Prozess darstellt und damit die Expression des GPER-1 beeinflusst werden kann. Sie zeigten auf, dass es durch die Hypermethylierung des GPER-1 Promotors zu einer verringerten Expression von GPER-1 kommt. Wie oben beschrieben, haben Tumorzellen die Eigenschaft, durch Promotorhypermethylierung die Expression von Tumorsuppressorgenen zu verringern. Das wiederum bestätigt, dass GPER-1 einen hohen Wert als Tumorsuppressor aufweist (71).

Daraus folgend könnte die Promotormethylierung von GPER-1 in Bezug auf das Patientenüberleben unter Tamoxifen-Therapie eine Bedeutung zugeschrieben werden und weitere Untersuchungen notwendig machen.

Diese genannten Fehlerquellen sind Erklärungen, um den unterschiedlichen Ergebnissen in den verschiedenen Untersuchungen beziehungsweise Studien zu verstehen, jedoch keine Beweise, sodass noch weitere prospektive Forschungen in diesem Themenbereich erforderlich sind.

Insgesamt konnte unsere Studie aufzeigen, dass zum einen die GPER-1 Expression mit einer günstigen Tumorbiologie bei Mammakarzinomen einhergeht, andererseits zu einer möglichen Tamoxifen-Resistenz durch die agonistische Wirkung von Tamoxifen auf das GPER-1 führen kann und eine große Herausforderung für die Behandlung von Patienten mit einem Mammakarzinom darstellt

Als Konsequenz aus dieser Studie stellt sich die Frage, ob die Behandlung von Mammakarzinomen mit günstiger Tumorbilologie überdacht werden sollte.

Die aktuellen Leitlinien empfehlen bei Patienten mit invasivem, nicht-metastasiertem Mammakarzinom mit günstiger Tumorbilologie, bedeutet höheres Erkrankungsalter, positiver Hormonrezeptorstatus, negativer HER2- Status, geringer Ki-67 Nachweis, die endokrine Therapie mit Tamoxifen (45).

Diese Studie zeigt auf, dass eine GPER-1 Expression am häufigsten mit einer günstigen Tumorbilologie vergesellschaftet ist, aber auch mit einem niedrigeren DFS nach Tamoxifentherapie einhergeht. Von daher stellt sich die Frage, ob entweder die generelle endokrine Therapie mit Tamoxifen schon bei Patienten mit guten Prognosefaktoren auf Aromataseinhibitoren umgestellt werden sollte, ohne den GPER-1 Status zu analysieren, um der möglichen Resistenz für Tamoxifen entgegenzuwirken oder ob der Nachweis der GPER-1 Expression im Mammakarzinomgewebe als Standard der Histologie eingeführt werden sollte und so einen Einfluss auf die Auswahl der endokrinen Therapieoptionen hat.

5. Zusammenfassung

Das Mammakarzinom gehört zu einer der häufigsten Krebserkrankungen sowie auch krebisbedingten Todesursachen der Frau. Da jeder Tumor des Mammakarzinoms eine Reihe unterschiedlicher Eigenschaften aufweist, wie histologische Subtypen, Hormonrezeptoren, viele weitere Protein- und Antigenstrukturen, ist die Therapie des Mammakarzinoms für jede Patientin sehr individuell.

Östrogene sind für die Entwicklung und Homöostase der Brustdrüse unerlässlich, andererseits fördert es auch Tumore, die aus diesem Gewebe entstehen. Östrogene gehen eine Wechselwirkung mit speziellen Rezeptoren, den Östrogenrezeptor ER α und dessen Strukturhomologe ER β , ein. Sie gehören zu den nuklearen Steroidhormonrezeptoren und üben ihre Aktivität als hormonabhängige Transkriptionsfaktoren aus.

Um der tumorfördernden Hormonaktivität entgegenzuwirken, wurden Medikamente entwickelt, wie das Tamoxifen, die an den Rezeptoren des Östrogens binden und so keine Wachstumsreize mehr ausgesendet werden können. In vielen Studien wurde belegt, dass daraus folgend ein hohes krankheitsfreies Überleben bei Patienten unter Tamoxifentherapie festgestellt wurde (73).

Jedoch zeigen die Daten auch, dass die Tamoxifentherapie bei jeder vierten Frau nicht anschlägt. Eine Option scheint das Vorhandensein eines positiven GPER-1 zu sein, der zu den heptahelischen Transmembranrezeptoren gehört, welcher einerseits unabhängig von ER α und β wirkt, jedoch auch eine östrogenabhängige EGFR-Wirkung ausübt. Es bietet einen Mechanismus bei hormonrezeptorpositiven Karzinomen auch ohne Östrogen durch GPER-1 östrogenreaktiv zu bleiben, was für die endokrine Therapie bedeutet, dass Tamoxifen als Agonist GPER-1 aktivieren und so die EGFR- Aktivierung in Brustkrebszellen auslösen kann (20). Der G- Protein gekoppelte Östrogenrezeptor ist neben den klassischen Östrogenrezeptoren von wichtiger Bedeutung für die Entstehung und Therapie von hormonsensitiven Tumoren.

„GPR30 ist verantwortlich für die schnelle Aktivierung des nicht-genomischen Signalwegs und ist an den biologischen Prozessen beteiligt, einschließlich Migration, Proliferation, Adhäsion, Genregulation und Invasion der Krebszellen.“ (74)

Das Ziel dieser Dissertation war einerseits, den Zusammenhang zwischen GPER-1 positiven Mammakarzinom bezogen auf klinische und pathologische charakteristische Merkmale zu untersuchen, sowie prospektiv den Einfluss der Therapie unter Tamoxifen und deren möglichen Resistenzmechanismus zu beobachten.

Bei unserer Studie legten wir das Hauptaugenmerk auf die invasiven, nicht metastasierten Mammakarzinome mit positiven Hormonrezeptorstatus und deren Therapie mit dem selektiven Östrogenrezeptormodulator Tamoxifen, der kompetitiv den ER hemmt, sowie den Aromataseinhibitoren.

Wir konnten aufzeigen, dass GPER-1 Positivität mit einer günstigen Prognose bezüglich der Tumorcharakteristika einhergeht. Das bedeutet, dass der Nachweis von GPER-1 Expression vor allem bei hormonsensitivem, niedrigem histologischen Grading und geringer Ki-67- Expression signifikant korreliert und die Erhöhung mit einem besseren Patientenoutcome, vor allem bei Patienten ohne Tamoxifen-Therapie, einhergeht. Das weist darauf hin, dass GPER-1 einen Tumorsuppressioncharakter darstellen könnte.

Dieses Ergebnis ist wiederum wichtig für den zweiten Teil unsere Forschung. Patienten mit Hormonrezeptor-positivem Mammakarzinom erhalten entweder eine adjuvante Therapie mit Tamoxifen oder Aromataseinhibitoren, die dem Östrogen und seiner Wirkung entgegensteuern. Da es jedoch vermehrt zu Resistenzen gegenüber Tamoxifen kommt, haben wir aufgezeigt, dass eine Antwort darauf der GPER-1 und seine agonistische Wechselwirkung mit Tamoxifen sein könnte. Das Gesamtüberleben bei GPER-1 positiven Mammakarzinom Patienten unter Tamoxifen-Therapie war signifikant geringer als unter Aromataseinhibitoren. Durch Untersuchungen bezüglich des Zusammenhangs zwischen GPER-1 und Tamoxifen konnte aufgezeigt werden, dass Tamoxifen an dem GPER-1 eine stimulierende statt hemmender Funktion ausübt und so die Proliferation des Brustgewebes vorantreiben kann.

Diese Ergebnisse zeigen auf, dass weitere prospektive Untersuchungen bezüglich der GPER-1 Expression und der epigenetischen regulatorischen Mechanismen der Tamoxifen-Resistenz erforscht werden sollten und des Weiteren, dass der Nachweis

von GPER-1 neue Denkanstöße zur Behandlung des Mammakarzinoms darstellen sollte.

Zum einen könnte die aktuell empfohlene endokrine Therapie mit Tamoxifen bei günstiger Tumorbiologie auf Aromataseinhibitoren umgeändert werden, um der möglichen Resistenz gegen Tamoxifen entgegenzuwirken. Oder der Nachweis der GPER-1 Expression im Mammakarzinomgewebe sollte als Standard für die histologische Diagnostik eingeführt werden, um daraus folgend die Therapieoptionen zu bestimmen.

6. Literaturverzeichnis

1. DeSantis, C. E.; Bray, F.; Ferlay, J.; Lortet-Tieulent, J.; Anderson, B. O.; Jemal, A. (2015): International Variation in Female Breast Cancer Incidence and Mortality Rates. In: *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* 24 (10), S. 1495–1506. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-15-0535.
2. Blohmer, J.; David, M.; Henrich, W.; Sehouli, J. (2018): *Charité-Compendium Gynäkologie*; 1. Auflage; S.246ff; Verlag: De Gruyter
3. Kreienberg, R.; Möbus, V.; Jonat, W.; Kühn, T. (2010): *Mammakarzinom Interdisziplinär*; 4. Auflage; S. 84ff.; Verlag: Springer Berlin Heidelberg.
4. Kelsey, J. L.; Gammon, M. D.; John, E. M. (1993): Reproductive factors and breast cancer. In: *Epidemiologic reviews* 15 (1), S. 36–47. DOI: 10.1093/oxfordjournals.epirev.a036115.
5. Wallwiener, D.; Grischke, E.; Brucker, S.; Taran, F.; Bastert, G.; Becker S.; Ortmann, O. (2017): *Gynäkologische Onkologie*.; 8. Auflage.; S.6.; Hg. v. Diethelm, et al.; Stuttgart: Schattauer.
6. Clemons, M.; Goss, P. (2001): Estrogen and the risk of breast cancer. In: *The New England journal of medicine* 344 (4), S. 276–285. DOI: 10.1056/NEJM200101253440407.
7. Key, T. J.; Verkasalo, Pia K.; Banks, Emily (2001): Epidemiology of breast cancer. In: *The Lancet Oncology* 2 (3), S. 133–140. DOI: 10.1016/S1470-2045(00)00254-0.
8. Key, T. J.; Appleby, P. N.; Reeves, G. K.; Roddam, A.; Dorgan, J. F.; Longcope, C. et al. (2003): Body mass index, serum sex hormones, and breast cancer risk in postmenopausal women. In: *Journal of the National Cancer Institute* 95 (16), S. 1218–1226. DOI: 10.1093/jnci/djg022.
9. Johnson, K. C.; Miller, A. B.; Collishaw, N. E.; Palmer, J. R.; Hammond, S. K.; Salmon, A. G. et al. (2011): Active smoking and secondhand smoke increase breast cancer risk: the report of the Canadian Expert Panel on Tobacco Smoke and Breast Cancer Risk (2009). In: *Tobacco control* 20 (1), e2. DOI: 10.1136/tc.2010.035931.

10. McPherson, K.; Steel, C. M.; Dixon, J. M. (2000): ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. In: *BMJ (Clinical research ed.)* 321 (7261), S. 624–628. DOI: 10.1136/bmj.321.7261.624.

11. Zielinski, C.; Jakesz R. (Hg.) (1999): Onkologie heute: Mammacarcinom. ; S.1-9. ; Verlag Springer Wien

12. Scharl, A. (Hg.) (2011): Aktuelle Empfehlungen zur Prävention, Diagnostik und Therapie primärer und fortgeschrittener Mammakarzinome. State of the Art 2011. Arbeitsgemeinschaft für Gynäkologische Onkologie. S.51-55. München: W. Zuckschwerdt Verlag.

13. Baltzer, J.; Meerpohl, H.; Bahnsen, J. (2000): Praxis der gynäkologischen Onkologie. S.278. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.

14. Makki, J. (2015): Diversity of Breast Carcinoma: Histological Subtypes and Clinical Relevance. In: *Clinical medicine insights. Pathology* 8, S. 23–31. DOI: 10.4137/CPATH.S31563.

15. Petru, E.; Jonat, W.; Fink, D.; Köchli, O. (2009): Praxisbuch Gynäkologische Onkologie; 3. Auflage; S.7ff.; Verlag: Springer Berlin Heidelberg.

16. Azambuja, E. de; Cardoso, F.; Castro, G. de; Colozza, M.; Mano, M. S.; Durbecq, V. et al. (2007): Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. In: *British journal of cancer* 96 (10), S. 1504–1513. DOI: 10.1038/sj.bjc.6603756.

17. Urruticoechea, A.; Smith, I. E.; Dowsett, M. (2005): Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 23 (28), S. 7212–7220. DOI: 10.1200/JCO.2005.07.501.

18. Harbeck, N. (2013): Zielgerichtete Therapien beim Mammakarzinom. 1. Aufl., S.5-12. Stuttgart: Schattauer GmbH (Onkologie).

19. Novita, G.; Frasson, A. L.; Millen, E. C.; Zerwes, F.; Cavalcante, F. (2019): Breast Diseases. An Evidence-Based Pocket Guide. S.376. Cham: Springer International Publishing.

20. Filardo, E. J.; Graeber, C. T.; Quinn, J. A.; Resnick, M. B.; Giri, D.; DeLellis, R. A. et al. (2006): Distribution of GPR30, a seven membrane-spanning estrogen receptor, in primary breast cancer and its association with clinicopathologic determinants of tumor progression. In: *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 12 (21), S. 6359–6366. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0860.
21. Bodmer A., Castiglione M. (2011): Early breast cancer: The St. Gallen Consensus 2011. In: *Schweizer Zeitschrift für Onkologie* 03, S. 17–22.
22. Jensen, E. V.; DeSombre, E. R. (1973): Estrogen-receptor interaction. In: *Science (New York, N.Y.)* 182 (4108), S. 126–134. DOI: 10.1126/science.182.4108.126.
23. Nilsson, S.; Mäkelä, S.; Treuter, E.; Tujague, M.; Thomsen, J.; Andersson, G. et al. (2001): Mechanisms of estrogen action. In: *Physiological reviews* 81 (4), S. 1535–1565. DOI: 10.1152/physrev.2001.81.4.1535.
24. Prossnitz, E. R.; Arterburn, J. B.; Sklar, L.A. (2007): GPR30: A G protein-coupled receptor for estrogen. In: *Molecular and cellular endocrinology* 265-266, S. 138–142. DOI: 10.1016/j.mce.2006.12.010.
25. Knowlton, A. A.; Lee, A. R. (2012): Estrogen and the cardiovascular system. In: *Pharmacology & therapeutics* 135 (1), S. 54–70. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.03.007.
26. Sjöström, M.; Hartman, L.; Grabau, D.; Fornander, T.; Malmström, P.; Nordenskjöld, B. et al. (2014): Lack of G protein-coupled estrogen receptor (GPER) in the plasma membrane is associated with excellent long-term prognosis in breast cancer. In: *Breast cancer research and treatment* 145 (1), S. 61–71. DOI: 10.1007/s10549-014-2936-4.
27. Berg, J. M.; Tymoczko, J. L.; Gatto, G. J.; Stryer, L. (2018): Stryer Biochemie. 8. Aufl., S.488-490. Verlag: Springer Berlin Heidelberg.
28. Cunningham, M.; Gilkeson, G. (2011): Estrogen receptors in immunity and autoimmunity. In: *Clinical reviews in allergy & immunology* 40 (1), S. 66–73. DOI: 10.1007/s12016-010-8203-5.
29. Freissmuth, M.; Offermanns, S.; Böhm, S. (2016): Pharmakologie und Toxikologie. S.589-615. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

30. Rondón-Lagos, M.; Villegas, V. E.; Rangel, N.; Sánchez, M.; Zaphiropoulos, P. G. (2016): Tamoxifen Resistance: Emerging Molecular Targets. In: *International journal of molecular sciences* 17 (8). DOI: 10.3390/ijms17081357.
31. Vegeto, E.; Shahbaz, M. M.; Wen, D. X.; Goldman, M. E.; O'Malley, B. W.; McDonnell, D. P. (1993): Human progesterone receptor A form is a cell- and promoter-specific repressor of human progesterone receptor B function. In: *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* 7 (10), S. 1244–1255. DOI: 10.1210/mend.7.10.8264658.
32. Richer, J. K.; Jacobsen, B. M.; Manning, N. G.; Abel, M. G.; Wolf, D. M.; Horwitz, K. B. (2002): Differential gene regulation by the two progesterone receptor isoforms in human breast cancer cells. In: *The Journal of biological chemistry* 277 (7), S. 5209–5218. DOI: 10.1074/jbc.M110090200.
33. Barton, M. (2016): Not lost in translation: Emerging clinical importance of the G protein-coupled estrogen receptor GPER. In: *Steroids* 111, S. 37–45. DOI: 10.1016/j.steroids.2016.02.016.
34. Hsu, L.; Chu, N.; Lin, Y.; Kao, S. (2019): G-Protein Coupled Estrogen Receptor in Breast Cancer. In: *International journal of molecular sciences* 20 (2). DOI: 10.3390/ijms20020306.
35. Pupo, M.; Pisano, A.; Lappano, R.; Santolla, M. F.; de Francesco, E.; Abonante, S et al. (2012): Bisphenol A induces gene expression changes and proliferative effects through GPER in breast cancer cells and cancer-associated fibroblasts. In: *Environmental health perspectives* 120 (8), S. 1177–1182. DOI: 10.1289/ehp.1104526.
36. Jacenik, D.; Cygankiewicz, A. I.; Krajewska, W.M. (2016): The G protein-coupled estrogen receptor as a modulator of neoplastic transformation. In: *Molecular and cellular endocrinology* 429, S. 10–18. DOI: 10.1016/j.mce.2016.04.011.
37. Filardo, E. J.; Quinn, J. A.; Bland, K. I.; Frackelton, A. R. (2000): Estrogen-induced activation of Erk-1 and Erk-2 requires the G protein-coupled receptor homolog, GPR30, and occurs via trans-activation of the epidermal growth factor receptor through release of HB-EGF. In: *Molecular endocrinology (Baltimore, Md.)* 14 (10), S. 1649–1660. DOI: 10.1210/mend.14.10.0532.
38. Revankar, C. M.; Cimino, D. F.; Sklar, L. A.; Arterburn, J. B.; Prossnitz, E. R. (2005): A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell

signaling. In: *Science (New York, N.Y.)* 307 (5715), S. 1625–1630. DOI: 10.1126/science.1106943.

39. Filardo, E.; Quinn, J.; Pang, Y.; Graeber, C.; Shaw, S.; Dong, J.; Thomas, P. (2007): Activation of the novel estrogen receptor G protein-coupled receptor 30 (GPR30) at the plasma membrane. In: *Endocrinology* 148 (7), S. 3236–3245. DOI: 10.1210/en.2006-1605.
40. Filardo, E. J. (2002): Epidermal growth factor receptor (EGFR) transactivation by estrogen via the G-protein-coupled receptor, GPR30: a novel signaling pathway with potential significance for breast cancer. In: *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 80 (2), S. 231–238. DOI: 10.1016/s0960-0760(01)00190-x.
41. Albanito, L.; Madeo, A.; Lappano, R.; Vivacqua, A.; Rago, V.; Carpino, A. et al. (2007): G protein-coupled receptor 30 (GPR30) mediates gene expression changes and growth response to 17beta-estradiol and selective GPR30 ligand G-1 in ovarian cancer cells. In: *Cancer research* 67 (4), S. 1859–1866. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2909
42. Maggiolini, M.; Vivacqua, A.; Fasanella, G.; Recchia, A. G.; Sisci, D.; Pezzi, V. et al. (2004): The G protein-coupled receptor GPR30 mediates c-fos up-regulation by 17beta-estradiol and phytoestrogens in breast cancer cells. In: *The Journal of biological chemistry* 279 (26), S. 27008–27016. DOI: 10.1074/jbc.M403588200.
43. Thomas, P.; Pang, Y.; Filardo, E. J.; Dong, J. (2005): Identity of an estrogen membrane receptor coupled to a G protein in human breast cancer cells. In: *Endocrinology* 146 (2), S. 624–632. DOI: 10.1210/en.2004-1064.
44. Kaufmann, M.; Loibl, S.; Rody, A.; Minckwitz, G. von (2006): Stadienadaptierte Therapie des Mammakarzinoms. In: *Gynäkologe* 39 (8), S. 618–626. DOI: 10.1007/s00129-006-1870-x.
45. Kreienberg, R.; Office des Leitlinienprogramms Onkologie (2012): Interdisziplinäre S3-Leitlinie für die Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Mammakarzinoms; 4. Auflage; S.185ff; Germering/München: Zuckschwerdt.
46. Prossnitz, E. R.; Barton, M. (2009): Signaling, physiological functions and clinical relevance of the G protein-coupled estrogen receptor GPER. In: *Prostaglandins & other lipid mediators* 89 (3-4), S. 89–97. DOI: 10.1016/j.prostaglandins.2009.05.001.

47. Banys-Paluchowski, M.; Krawczyk, N.; Fehm, T.; Müller, V. (2016): Aromatasehemmer: Eine kritische Bestandsaufnahme. Perspektiven der Gynäkologie. In: *Deutsches Ärzteblatt* (113-11), S. 12–15. Online verfügbar unter <https://www.aerzteblatt.de/archiv/175351/Aromatasehemmer-Eine-kritische-Bestandsaufnahme>.
48. Lønning, P. E. (2007): Adjuvant endocrine treatment of early breast cancer. In: *Hematology/oncology clinics of North America* 21 (2), S. 223–238. DOI: 10.1016/j.hoc.2007.03.002.
49. Hu, R.; Hilakivi-Clarke, L.; Clarke, R. (2015): Molecular mechanisms of tamoxifen-associated endometrial cancer (Review). In: *Oncology letters* 9 (4), S. 1495–1501. DOI: 10.3892/ol.2015.2962.
50. Ignatov, T.; Weißenborn, C.; Poehlmann, A.; Lemke, A.; Semczuk, A.; Roessner, A. et al. (2013): GPER-1 expression decreases during breast cancer tumorigenesis. In: *Cancer investigation* 31 (5), S. 309–315. DOI: 10.3109/07357907.2013.789901.
51. Ignatov, A.; Ignatov, T.; Weissenborn, C.; Eggemann, H.; Bischoff, J.; Semczuk, A. et al. (2011): G-protein-coupled estrogen receptor GPR30 and tamoxifen resistance in breast cancer. In: *Breast cancer research and treatment* 128 (2), S. 457–466. DOI: 10.1007/s10549-011-1584-1.
52. Kuo, W.; Chang, L.; Liu, D. L.; Hwa, H.; Lin, J.; Lee, P. et al. (2007): The Interactions between GPR30 and the major Biomarkers in Infiltrating Ductal Carcinoma of the Breast in an Asian Population. In: *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology* 46 (2), S. 135–145. DOI: 10.1016/S1028-4559(07)60007-2.
53. Ariazi, E. A.; Brailoiu, E.; Yerrum, S.; Shupp, H. A.; Slifker, M. J.; Cunliffe, H. E. et al. (2010): The G protein-coupled receptor GPR30 inhibits proliferation of estrogen receptor-positive breast cancer cells. In: *Cancer research* 70 (3), S. 1184–1194. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3068.
54. Luo, H.; Luo, P.; Yang, G.; Peng, Q.; Liu, M.; Tu, G. (2011): G-protein Coupled Estrogen Receptor 1 Expression in Primary Breast Cancers and Its Correlation with Clinicopathological Variables. In: *Journal of breast cancer* 14 (3), S. 185–190. DOI: 10.4048/jbc.2011.14.3.185.
55. Samartzis, E. P.; Noske, A.; Meisel, A.; Varga, Z.; Fink, D.; Imesch, P. (2014): The G protein-coupled estrogen receptor (GPER) is expressed in two different

subcellular localizations reflecting distinct tumor properties in breast cancer. In: *PloS one* 9 (1), e83296. DOI: 10.1371/journal.pone.0083296.

56. Broselid, S.; Cheng, B.; Sjöström, M.; Lövgren, K.; Klug-De Santiago, H. L. P.; Belting, M. et al. (2013): G protein-coupled estrogen receptor is apoptotic and correlates with increased distant disease-free survival of estrogen receptor-positive breast cancer patients. In: *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research* 19 (7), S. 1681–1692. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2376.
57. Arias-Pulido, H.; Royce, M.; Gong, Y.; Joste, N.; Lomo, L.; Lee, S. et al. (2010): GPR30 and estrogen receptor expression: new insights into hormone dependence of inflammatory breast cancer. In: *Breast cancer research and treatment* 123 (1), S. 51–58. DOI: 10.1007/s10549-009-0631-7.
58. Ignatov, T.; Modl, S.; Thulig, M.; Weißenborn, C.; Treeck, O.; Ortmann, O. et al. (2013): GPER-1 acts as a tumor suppressor in ovarian cancer. In: *Journal of ovarian research* 6 (1), S. 51. DOI: 10.1186/1757-2215-6-51.
59. Weißenborn, C.; Ignatov, T.; Ochel, H.; Costa, S. D.; Zenclussen, A. C.; Ignatova, Z.; Ignatov, A. (2014): GPER functions as a tumor suppressor in triple-negative breast cancer cells. In: *Journal of cancer research and clinical oncology* 140 (5), S. 713–723. DOI: 10.1007/s00432-014-1620-8.
60. Weißenborn, C.; Ignatov, T.; Poehlmann, A.; Wege, A. K.; Costa, S. D.; Zenclussen, A. C.; Ignatov, A. (2014): GPER functions as a tumor suppressor in MCF-7 and SK-BR-3 breast cancer cells. In: *Journal of cancer research and clinical oncology* 140 (4), S. 663–671. DOI: 10.1007/s00432-014-1598-2.
61. Chan, Q. K. Y.; Lam, H-M; Ng, C-F; Lee, A. Y. Y.; Chan, E. S. Y.; Ng, H-K et al. (2010): Activation of GPR30 inhibits the growth of prostate cancer cells through sustained activation of Erk1/2, c-jun/c-fos-dependent upregulation of p21, and induction of G(2) cell-cycle arrest. In: *Cell death and differentiation* 17 (9), S. 1511–1523. DOI: 10.1038/cdd.2010.20.
62. Liu, Q.; Chen, Z.; Jiang, G.; Zhou, Y.; Yang, X.; Huang, H. et al. (2017): Epigenetic down regulation of G protein-coupled estrogen receptor (GPER) functions as a tumor suppressor in colorectal cancer. In: *Molecular cancer* 16 (1), S. 87. DOI: 10.1186/s12943-017-0654-3.
63. Ribeiro, M. P. C.; Santos, A. E.; Custódio, J. B. (2017): The activation of the G protein-coupled estrogen receptor (GPER) inhibits the proliferation of mouse

melanoma K1735-M2 cells. In: *Chemico-biological interactions* 277, S. 176–184. DOI: 10.1016/j.cbi.2017.09.017.

64. Ignatov, A.; Ignatov, T.; Roessner, A.; Costa, S. D.; Kalinski, T. (2010): Role of GPR30 in the mechanisms of tamoxifen resistance in breast cancer MCF-7 cells. In: *Breast cancer research and treatment* 123 (1), S. 87–96. DOI: 10.1007/s10549-009-0624-6.
65. Ignatov, T.; Eggemann, H.; Semczuk, A.; Smith, B.; Bischoff, J.; Roessner, A. et al. (2010): Role of GPR30 in endometrial pathology after tamoxifen for breast cancer. In: *American journal of obstetrics and gynecology* 203 (6), 595.e9-16. DOI: 10.1016/j.ajog.2010.07.034.
66. Mo, Z.; Liu, M.; Yang, F.; Luo, H.; Li, Z.; Tu, G.; Yang, G. (2013): GPR30 as an initiator of tamoxifen resistance in hormone-dependent breast cancer. In: *Breast cancer research: BCR* 15 (6), R114. DOI: 10.1186/bcr3581.
67. Prossnitz, E. R.; Barton, M. (2011): The G-protein-coupled estrogen receptor GPER in health and disease. In: *Nature reviews. Endocrinology* 7 (12), S. 715–726. DOI: 10.1038/nrendo.2011.122.
68. Molina, L.; Figueroa, C. D.; Bhoola, K. D.; Ehrenfeld, P. (2017): GPER-1/GPR30 a novel estrogen receptor sited in the cell membrane: therapeutic coupling to breast cancer. In: *Expert opinion on therapeutic targets* 21 (8), S. 755–766. DOI: 10.1080/14728222.2017.1350264.
69. Molina, L.; Bustamante, F.; Orloff, A.; Ramos, I.; Ehrenfeld, P.; Figueroa, C. D. (2020): Continuous Exposure of Breast Cancer Cells to Tamoxifen Upregulates GPER-1 and Increases Cell Proliferation. In: *Frontiers in endocrinology* 11, S. 563165. DOI: 10.3389/fendo.2020.563165.
70. Ignatov, T.; Treeck, O.; Kalinski, T.; Ortmann, O.; Ignatov, A. (2020): GPER-1 expression is associated with a decreased response rate to primary tamoxifen therapy of breast cancer patients. In: *Archives of gynecology and obstetrics* 301 (2), S. 565–571. DOI: 10.1007/s00404-019-05384-6.
71. Weissenborn, C.; Ignatov, T.; Nass, N.; Kalinski, T.; Costa, S. D.; Zenclussen, A. C.; Ignatov, A. (2017): GPER Promoter Methylation Controls GPER Expression in Breast Cancer Patients. In: *Cancer investigation* 35 (2), S. 100–107. DOI: 10.1080/07357907.2016.1271886.

72. Reamon-Buettner, S. M.; Borlak, J. (2008): Epigenetic silencing of cell adhesion molecule 1 in different cancer progenitor cells of transgenic c-Myc and c-Raf mouse lung tumors. In: *Cancer research* 68 (18), S. 7587–7596. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0967.
73. Saladores, P.; Mürdter, T.; Eccles, D.; Chowbay, B.; Zgheib, N. K.; Winter, S. et al. (2015): Tamoxifen metabolism predicts drug concentrations and outcome in premenopausal patients with early breast cancer. In: *The pharmacogenomics journal* 15 (1), S. 84–94. DOI: 10.1038/tpj.2014.34.
74. Ohshiro, K.; Schwartz, A. M.; Levine, P. H.; Kumar, R. (2012): Alternate estrogen receptors promote invasion of inflammatory breast cancer cells via non-genomic signaling. In: *PloS one* 7 (1), e30725. DOI: 10.1371/journal.pone.0030725.

7. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die mich während der Anfertigung dieser Doktorarbeit unterstützt haben.

Insbesondere möchte ich Herrn Prof. Atanas Ignatov für die Bereitstellung des interessanten Themas sowie des Arbeitsplatzes und der Materialien bedanken. Auch die hervorragende Betreuung und Hilfsbereitschaft zu jeder Zeit waren mir stets eine große Unterstützung.

Des Weiteren möchte ich Irina Lenko und Annerose Busche-Engelmann für die mühevollen Arbeit des Korrekturlesens bedanken. Sie haben einen großen Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Auch gilt ein besonderer Dank meiner Familie und meinem Ehemann. Vor allem meiner Mutter Frau Dr. Petra Claus, die mich mit ihrem Wissen als Gynäkologin von Beginn der Doktorarbeit bis zum Abgeben begleitet und mit fachkundigem Rat zu Seite stand, möchte ich mich herzlich bedanken. Meinem Ehemann Julian Engelmann danke ich von ganzem Herzen für seine uneingeschränkte Unterstützung, seine Liebe und Motivation.

8. Ehrenerklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel:

G-Protein-gekoppelter Östrogenrezeptor-1 (GPER-1) Expression im Hormonrezeptor-positiven Mammakarzinom und ihr Einfluss auf die endokrine Therapie

.
in der Universitätsfrauenklinik Magdeburg
mit Unterstützung durch Prof. Dr. med. A. Ignatov

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den

9. Lebenslauf

Maria Luise Claus-Engelmann
geboren am 11.03.1992 in Braunschweig
verheiratet
Hegelstraße 34, 39104 Magdeburg

Berufserfahrung

September 2019 bis dato	Assistenzärztin für Gynäkologie und Geburtshilfe Universitätsfrauenklinik Magdeburg
-------------------------	--

Hochschulausbildung

Mai 2018 bis Mai 2019	Praktisches Jahr Innere Medizin, Schwerpunkt: Hämatologie/ Onkologie Harzklinikum Dorothea Christiane Erxleben GmbH Chirurgie Karapitiya Teaching Hospital, Galle, Sri Lanka Gynäkologie/ Geburtshilfe Klinikum Magdeburg GmbH
Oktober 2014 – Juni 2019	Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen, Abschluss: Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
September 2011 – Juni 2013	Studium der Humanmedizin an der Semmelweis Universität Budapest Abschluss: Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
August 2016	Famulatur Allgemeinmedizin, Dr. Rother in Magdeburg
März 2016	Famulatur Allgemeinmedizin, Dr. Preden in Aschersleben
März 2015	Famulatur Palliativmedizin, Klinikum Pfeiffersche Stiftungen Magdeburg
Dezember 2013	Famulatur Gynäkologie/ Geburtshilfe, Klinikum St. Marienstift Magdeburg

Freiwilliges soziales Jahr

Oktober 2010 – August 2011	Klinikum St. Marienstift Magdeburg Station: Orthopädie und Gynäkologie
----------------------------	---

Schulausbildung

August 2008 – Juli 2010	Internatsschule Hadmersleben Abschluss: Allgemeine Hochschulreife mit 2,0
August 2002 – Juli 2008	Ökumenisches Domgymnasium Magdeburg
August 1998 – August 2002	Grundschule Leibnizschule Magdeburg

Praktische Erfahrungen

August 2017	Projektleiterin „Schwerpunkt: Medizin“ im Team Talentakademie von Bildung und Begabung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung
April 2016 – Oktober 2017	GRIPS Tutor Justus – Liebig – Universität Gießen
August 2014	Rumänienprojekt von den Maltesern
November bis Dezember 2013	Mitgliederwerbung für die Johanniter am Bodensee, Wesser GmbH
Sommer 2010	Kinder Gewalt Prävention (Kinder & Jugend Sicherheitsteam)

Sprachkenntnisse

Englisch	konversationssicher
Latein	kleines Latinum

Hobbys

Joggen und Fitnessstudio, Open Water Diving, 9 Jahre
Klavierunterricht, Ski fahren seit dem 4. Lebensjahr